



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

TRANSFORMAÇÕES NA DENTINA E NA CAVIDADE PULPAR CONSOANTE A IDADE DO INDIVÍDUO

Trabalho submetido por
Inês Pires Saramago
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2017



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

TRANSFORMAÇÕES NA DENTINA E NA CAVIDADE PULPAR CONSOANTE A IDADE DO INDIVÍDUO

Trabalho submetido por
Inês Pires Saramago
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Professor Doutor Eduardo Barros

outubro de 2017

AGRADECIMENTOS

Após este longo percurso académico, uma grande fase da minha vida, tão importante para mim, gostaria de deixar um grande agradecimento às pessoas que me ajudaram a realizar este sonho e que permitiram que este fosse possível.

Ao meu Orientador, Professor Doutor Eduardo Barros, por toda a ajuda e disponibilidade, sem as quais não teria conseguido.

A todos os professores do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, por toda a formação e conhecimentos que me transmitiram e que me permitiram chegar até aqui.

À minha querida mãe, que tanto lutou por eu estar aqui e por tudo o que me deu na vida.

À minha amiga Dona Lurdes, sem ela nunca teria conseguido.

Aos meus irmãos, Susana, Lara e João Paulo. Aos meus avós.

Aos meus amigos de curso que tanto me ajudaram neste caminho: Michelle Lima, Verónica Cunha, Rita Romeu, Bárbara Nunes. À minha afilhada de praxe e companheira de casa, Silena Pires. À Mariana Guanilho, por tudo o que passámos. À minha colega de box, Rute Castanheira, por toda a paciência. Ao Fábio Mano, por toda a ajuda.

RESUMO

Hoje em dia, a medicina dentária encontra-se profundamente relacionada com as ciências forenses, e pode-se considerar um precioso instrumento no que diz respeito à sua ajuda na identificação de um indivíduo, quer no ante como no *post-mortem*. As transformações biológicas presentes no dente e que fazem parte do envelhecimento, são uma ferramenta importante para o conhecimento da idade, sexo e raça de um indivíduo, elementos considerados relevantes na identificação.

Diversos são os estudos na área da medicina dentária forense que têm o propósito de relacionar a idade cronológica do indivíduo com as transformações dentárias sendo também diversos os métodos utilizados para tal. O objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão da literatura já existente, referente às transformações dentinárias e pulpares mais estudadas, relacionadas com o tempo, fazendo referência também aos diversos métodos utilizados.

Palavras-chave: dentina, polpa, idade, envelhecimento

ABSTRACT

Nowadays, dentistry is deeply related to forensic science, and can be considered a valuable tool for its help in identifying an individual, both ante and post-mortem. The biological transformations present in the tooth that are part of aging, are an important tool for the knowledge of the age, sex and race of an individual, elements considered relevant in the identification.

Several studies are in the field of forensic dental medicine that have the purpose of relating the chronological age of the individual with the dental transformations and also the different methods used for this. The objective of this work was to review the existing literature, referring to the most studied and related dentin and pulp transformations, referring to the different methods used.

Key words: dentin, pulp, age, aging

ÍNDICE GERAL

I.	INTRODUÇÃO.....	11
II.	DESENVOLVIMENTO	17
	1-Transformações na Dentina.....	17
	1.1-Aposição de dentina secundária.....	17
	1.2-Translucidez dentinária.....	21
	1.3-Quantidade de Ácido Aspártico.....	26
	1.4-Viscoelasticidade.....	30
	1.5-Resistência à fratura.....	33
	1.6-Outras transformações.....	35
	2-Transformações na Cavidade Pulpar.....	42
	2.1-Volume da câmara pulpar.....	42
	2.1.1-Aposição de dentina secundária.....	42
	2.1.2-Calcificação da polpa.....	46
	2.2-Visibilidade da Polpa da Raiz (RPV).....	48
	2.3-Índice Coronal e Rácio Polpa/Dente.....	51
	2.4-Número de células da polpa.....	56
III.	CONCLUSÃO.....	58
IV.	BIBLIOGRAFIA.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Estágios da formação de dentina secundária.....	18
Figura 2- Medições micrométricas da morfologia do dente.....	19
Figura 3- Medição da translucidez dentinária.....	24
Figura 4- Micrografia da microestrutura da dentina externa.....	31
Figura 5- Micrografia eletrônica de varredura das superfícies de fratura do tecido dentinário.....	33
Figura 6- Micrografias de túbulos dentinários da dentina externa.....	36
Fig.7- Indentação da dentina externa numa amostra jovem e idosa para determinação da dureza de Vickers.....	37
Fig.8- Profundidade da invasão bacteriana.....	40
Fig.9- câmara pulpar de um dente multirradicular, imagem segmentada.....	43
Fig.10- Imagem Bucolingual da visão sagital do canino direito maxilar em CBCT.....	46
Fig. 11- Desenho esquemático dos estágios de visibilidade radiográfica da polpa.....	49
Fig. 12- Imagem panorâmica com as medidas para calcular o índice coronal do dente.....	52
Fig. 13- Imagem panorâmica com as medidas para calcular o rácio polpa/dente.....	52
Fig. 14 – Cálculo da área dentária e pulpar em AUTOCAD.....	53

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADA - American Dental Association

Asp - Aspartato

CBCT - Tomografia Computorizada por Cone Beam

GPa - Gigapascals

CE - Cromatografia por exclusão

Cm - centímetros

GC - Cromatografia gasosa

JAC - Junção amelo-cementária

JAD - Junção amelo-dentinária

kV - Kilovolts

LC - Cromatografia líquida

LED - Light Emitting Diode (Diodo Emissor de Luz)

mA - Milliampères

mm - Milímetros

MPa - Megapascals

N - Newtons

RPV - Root Pulp Visibility (Visibilidade da polpa da raiz)

TC -tomografia computadorizada

UV - Ultra Violeta

Mm - Micrómetros

I. INTRODUÇÃO

Ao entrar num novo milénio, a sociedade tem vindo a enfrentar todo o tipo de desafios em todas as áreas possíveis existentes. Mesmo com as inovações e o avançar da tecnologia para tentar enfrentar todos estes problemas, não há nada que possa parar as catástrofes ou a criminalidade e esta última tem vindo a crescer cada vez mais (Kumar, Gowda, & Annigeri, 2016).

Profundamente interligada à antropologia física, a disciplina de antropologia forense, baseada na aplicação da teoria e do método da primeira num contexto médico-legal, evoluiu consideravelmente ao longo do último meio século, estando evidente na literatura a diversidade e o avanço tecnológico na prática da antropologia forense (Franklin, Swift, & Flavel, 2016).

Identificação significa estabelecer a identidade do indivíduo e a identificação forense é o procedimento judicial do cientista, realizado em pessoas vivas ou mortas. Numa investigação forense existem várias incógnitas médico-legais e criminológicas para definir, tais como o sexo, idade, nacionalidade, etnia, causa e data da morte da vítima (Tapia, Srur, Cordero, & Silva, 2014). A estimativa da idade dentária é uma incógnita importante, uma vez necessária tanto em aspetos clínicos como científicos, que incluem a odontologia pediátrica, Ortodontia, arqueologia, paleontologia e Odontologia forense.

A determinação da idade é sem dúvida um método imprescindível na identificação de um indivíduo, pois é preciosa em vários processos de investigação criminal, desastres em massa e outros processos legais (Arora, Talwar, Sahni, & Rattan, 2016) sendo, por isso, considerada um problema frequente na Medicina Legal. É necessária se não houver informações ante-mortem disponíveis e quisermos reconstruir o perfil e a identificação do indivíduo (Bajpai, Rahman, & Girish, 2015). Existem países em desenvolvimento, como por exemplo a Índia, em que as pessoas não têm conhecimento da sua data de nascimento, por serem analfabetas. A data de nascimento é necessária e exigida por agências representantes da lei, em situações de responsabilidades criminais, prostituição, violação, aborto fora da lei, (Arora et al., 2016) consentimento no

atendimento escolar, benefícios sociais, casamentos, empregabilidade e na identificação (Bajpai et al., 2015).

Por vezes, estimar a idade pode tornar-se um autêntico desafio, quando existem apenas restos humanos, sujeitos a processos de putrefação, combustão ou outros. Em muitos destes casos, só as estruturas mais duras do corpo, como ossos e dentes, conseguem resistir à deterioração. O dente tem uma estrutura única, sendo o componente mais resistente do corpo humano, conseguindo até resistir a tragédias e desastres ambientais, sendo muitas vezes a única parte do corpo disponível para estudo (Tapia et al., 2014) e é por isso considerado uma das principais fontes de evidência. Conseguem resistir a grandes períodos de tempo debaixo de água, subterrados em óleo, a fogo e a agentes biológicos. Posto isto, a Medicina Dentária forense e a estimativa da idade foram integradas com sucesso em bases éticas e humanitárias, aspetos legais e investigação criminal. Para além de toda a resistência que a peça dentária oferece, já mencionada anteriormente, as suas transformações características do desenvolvimento permanecem intactas, ou seja, não se deixam afetar por doenças do corpo humano em geral, drogas ou estados endócrinos, o que torna esta como a preferida dos investigadores e arqueólogos (Kumar et al., 2016). Uma vez que o dente é uma peça altamente resistente, fatores como a nutrição, ambiente e condições de vida a que o sujeito é submetido, minimamente irão influenciar nas mudanças relativas à idade (Ge, Yang, Li, Zhang, & Ma, 2016).

Vários indicadores da estimativa da idade se tornaram cada vez mais importantes (características sexuais secundárias, maturação óssea, altura e peso), mas a maturação dentária como indicador tem vindo a ganhar cada vez mais peso, tornando-se um método valioso (Acharya & Vimi, 2009).

Existem vários métodos para estimar a idade, tais como exame visual, métodos morfológicos, radiográficos, histológicos, métodos bioquímicos e mudanças estruturais nos dentes (Tapia et al., 2014) e uma vez que a peça dentária consegue resistir a tais catástrofes ambientais ou agressões durante um longo período de tempo, a sua avaliação histológica é considerada importante.

O seu desenvolvimento segue um padrão bem definido. Nas crianças, a estimativa da idade pode ser alcançada com base nas mudanças relativas ao desenvolvimento do

dente, e na erupção (Chopra, Thodasam, & Singh, 2015). Pode ser dividido em duas fases da vida: a primeira, até aos 20 anos, onde se utilizam métodos de correlação de desenvolvimento e crescimento e a segunda a partir daí, quando todos os dentes já terminaram o seu desenvolvimento e começam as mudanças regressivas. Nos adultos, esta estimativa pode ser determinada com base nas transformações dos tecidos duros do dente (esmalte, dentina e cemento). Mudanças de regressão, tais como a atrição, a deposição de dentina secundária, de cemento e a translucidez da dentina radicular são valiosas na estimativa da idade do indivíduo. No entanto, a atrição e a aposição de cemento são parâmetros bastante dependentes do estilo de vida do indivíduo, não sendo portanto considerados fiáveis por completo (Bajpai et al., 2015). O desenvolvimento do dente, na sua totalidade está também dependente de condições cronológicas, ambientais, hereditárias e sexuais e, por isso, muitas vezes a idade fisiológica ou biológica não corresponde à idade cronológica. Deste modo, um bio-marcador independente das alterações ambientais irá fornecer uma informação mais precisa.

Nos indivíduos com mais de 14 anos, a estimativa da idade constitui um desafio, pois todos os dentes permanentes já terminaram o seu desenvolvimento e inúmeros métodos para a tentativa de solucionar este problema, tais como a medida do grau de ácido aspártico ou a extração do cemento, são métodos invasivos, não podendo ser, portanto, realizados em indivíduos vivos por razões éticas, culturais ou religiosas (Jain, Nagi, Daga, Shandilya, & Shukla, 2017).

Gustafson estabeleceu seis parâmetros para estimar a idade dentária: atrito, angulações no cemento, deposição de dentina secundária, reabsorção radicular e translucidez dentinária. Estabeleceu uma pontuação entre zero a três, com base na gravidade de mudanças observadas visualmente e na estimativa da idade. Calculou a idade usando uma fórmula de regressão segundo a sua observação $3,52X + 8,88$ (X - pontuação total, Y - idade estimada). Afirmou também que a diferença entre idade calculada e idade real não excederia $\pm 3,6$ anos em 33% dos casos, $\pm 7,3$ anos em casos de 4,5%, $\pm 9,1$ anos em 1% dos casos e $\pm 10,9$ anos em 0,3% dos casos (Bajpai et al., 2015).

A dentina forma a maior parte do volume do dente, desenvolvendo-se desde a infância até à adolescência e a sua espessura, desde a polpa até ao esmalte, varia de dente para dente, normalmente com cerca de 2 mm nos incisivos mandibulares até 3 mm em caninos e molares. Tende também a aumentar com a idade, por acumulação (Montoya,

Arola, & Ossa, 2017). Após este período poderá sofrer alterações fisiológicas, tais como o processo de esclerose. Este é conhecido como translucidez e que se observa visualmente (Kattappagari et al., 2014).

A odontogénese é o nome dado à formação da dentina. Os odontoblastos são as células produtoras de dentina e a primeira dentina a ser formada, está continuamente a ser produzida, denominada de dentina primária até à sua erupção (Montoya et al., 2017). É denominada de dentina secundária, após a erupção dentária, até ao final da vida. A dentina é considerada um composto biológico hierárquico pela sua composição. Microestruturalmente é constituída na sua maioria pelos túbulos dentinários que se estendem desde a cavidade pulpar à junção amelodentinária (JAD) e da estrutura dos túbulos fazem parte os processos odontoblásticos, prolongamentos dos primeiros. A envolver o lúmen de cada túbulo existe um alo, altamente mineralizado, que contém principalmente cristais de apatite e uma pequena percentagem de matéria orgânica (dentina peritubular). A dentina intratubular, é também constituída por matéria orgânica (maioritariamente colagénio) reforçada pelos cristais de apatite (Montoya, Arango-santander, Peláez-vargas, Arola, & Ossa, 2015). A dentina peri-tubular é o resultado da contínua deposição de dentina pelos odontoblastos, que segue um padrão circular à volta do túbulo, constituída por várias camadas. À medida que este fenómeno ocorre, existe redução do tamanho da câmara pulpar e o corpo dos odontoblastos entra dentro desta câmara e os processos odontoblásticos permanecem dentro dos túbulos dentinários (Montoya et al., 2017).

Este tecido dentinário serve como base elástica para o esmalte que é frágil e rijo, bem como um protetor para a polpa (Nazari, Bajaj, Zhang, Romberg, & Arola, 2009). O Módulo Young da dentina jovem varia entre 20 e 25 GPa, a resistência à tração varia entre 52 MPa e 105 MPa e a resistência à fratura entre 130-180 MPa. (Montoya et al., 2017). Os valores de resistência à fratura, paralelamente e perpendicularmente aos túbulos dentinários, são de cerca de 1,7 MPa \pm 0,5 e 2,0 MPa \pm 0,5, respetivamente. Quanto à sua dureza, medida através da escala de Vickers, é de aproximadamente 0,5 GPa (Montoya et al., 2015) e a resistência à flexão varia entre cerca de 130 a 180 MPa (Montoya et al., 2017).

O complexo pulpo-dentinário é uma estrutura que pode servir de estudo para relacionar a idade cronológica com as suas mudanças. O principal fenómeno envolvido nesta relação é a contínua aposição de dentina secundária (secretada pelos odontoblastos ao longo das paredes da câmara pulpar), concomitante com a diminuição do volume da câmara pulpar. Analisar as mudanças morfológicas nas paredes e do volume da cavidade pulpar, normalmente passa por procedimentos destrutivos, não sendo possível em indivíduos vivos. Deste modo, têm vindo a ser utilizados processos conservadores para estimar a idade, sendo a imagem radiológica o mais utilizado. Estas podem ser em 2D, como por exemplo, radiografias periapicais e ortopantomografias, ou 3D, como as TC (tomografias computadorizadas), CBCT (tomografia computadorizada por Cone Beam) e micro-CT (Pinchi et al., 2015).

Os avanços tecnológicos na imagem tiveram enormes benefícios nas ciências forenses, não apenas no que se refere às análises do trabalho caseiro, mas na facilitação da pesquisa empírica que já foi validada e melhorada, introduzindo assim novos métodos. A radiografia começou a ser aplicada pelas primeiras vezes em ciências forenses em finais do século XIX e início do século XX. Posteriormente o desenvolvimento da imagem foi simultâneo ao uso da tomografia computadorizada, utilizada pelos patologistas em autópsias, sendo este um procedimento considerado não invasivo, alternativo às práticas tradicionais, existindo um histórico de imagens radiográficas com quadro evolutivo ao longo dos tempos.

A técnica de radiografia passa pelo descarregamento de radiação eletromagnética. As partículas de raio X são absorvidas antes de passar para um filme sensível à radiação e a quantidade absorvida depende da estrutura e da densidade do objeto a ser radiografado. Resulta uma imagem sobreposta, bidimensional, da estrutura interna do objeto (Franklin et al., 2016). A exposição à radiação ionizante é uma questão sensível, devendo ser considerada a sua dose média, principalmente em imagens 3D, tanto na prática clínica como forense. O CBCT em medicina dentária é um exame valioso, pois fornece imagens tridimensionais e com uma boa qualidade, uma reduzida dose de radiação e a um custo acessível (Pinchi et al., 2015).

As regressões lineares simples são as mais utilizadas para análise em tudo o que diz respeito a estimativa da idade em odontologia forense (Kumar et al., 2016).

II. DESENVOLVIMENTO

1-Transformações na Dentina

1.1-Aposição de Dentina Secundária

A dentina secundária é uma fina camada de dentina que faz fronteira com a câmara pulpar e a sua formação é consideravelmente mais lenta que a da dentina primária. Contém menos túbulos do que a dentina primária e a sua formação não é uniforme. Está mais evidente ao nível do teto e do chão da câmara pulpar, para a proteção desta. Estes túbulos da dentina secundária podem selar, através da sua mineralização, em resposta à abrasão, cárie, envelhecimento, ou alguns fatores periodontais (Gupta et al., 2014). Depois de um número adequado de túbulos mineralizar, ou seja, ficar preenchido, fisicamente o tecido fica com aspeto transparente, denominado de dentina esclerótica. Esta mineralização deve-se à dissolução e posterior precipitação dos minerais dentinários dentro do lúmen (Nazari et al., 2009).

Em prol da formação de dentina secundária, ocorre a diminuição do tamanho da câmara pulpar (Zakir et al., 2017), o complexo pulpo-dentinário atua assim, de uma forma interligada em resposta aos vários fatores, que incluem o fator envelhecimento e, assim, este complexo torna-se importante na determinação da idade do indivíduo.

Várias pesquisas foram realizadas para estimar a idade, com base na deposição da dentina secundária, analisada através de diferentes fórmulas de regressão. O trabalho de Gustafson em 1950, foi o primeiro trabalho publicado relacionado com a estimativa da idade de secções histológicas de dentes e a dentina secundária foi incluída como uma das variáveis fisiológicas para a formulação de uma equação de regressão para estimar a idade (Arora et al., 2016).

A dentina secundária já foi utilizada para estimar a idade através de métodos qualitativos e quantitativos. Um Método qualitativo para medição da dentina secundária é o de Gustafson e um quantitativo é o de Kedici, referido em Arora et al., (2016). A radiografia é uma ferramenta que permite também avaliar a dentina de forma

quantitativa, método utilizado primeiramente por Kvaal et al. Os métodos qualitativos serão sempre subjetivos, sendo necessário a sua padronização.

No método de Gustafson, a dentina secundária é classificada de acordo com a sua extensão, segundo a sua pontuação, entre 0 e 3 do sistema de pontuação de Gustafson. De acordo com este método, a pontuação zero corresponde a uma não formação de dentina secundária; a pontuação 1 corresponde a formação de dentina secundária até à parte superior da cavidade pulpar; a pontuação 2 corresponde a formação de dentina secundária para além de dois terços da cavidade pulpar e a pontuação 3 corresponde a uma calcificação difusa de toda a cavidade pulpar, como se poderá observar na figura 1. Os resultados são posteriormente submetidos a uma análise de regressão para estimar a idade.

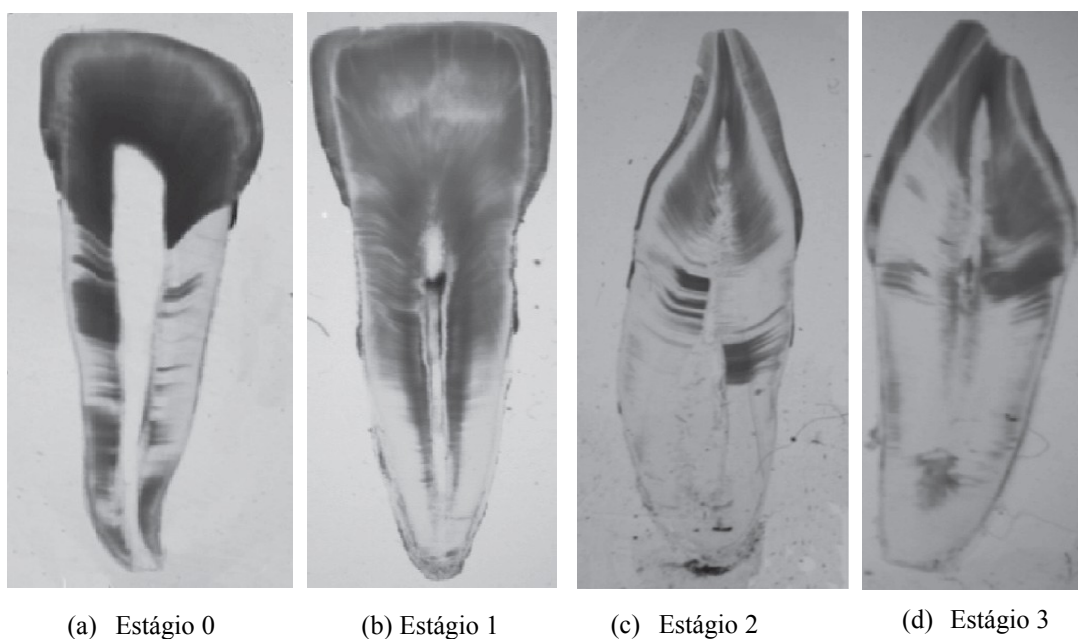


Figura 1- Estágios da formação de dentina secundária (Arora et. al, 2016).

No método de Kedici (2000) são realizadas medições micrométricas da dentina secundária. Neste método, estas medidas avaliam as mudanças morfológicas da cavidade pulpar consequentes da formação da dentina secundária (Arora et al., 2016).

Um estudo recente, em 2016, na Índia, conduzido por Arora et al., teve como objetivo comparar o método qualitativo de Gustafson com o quantitativo de Kedici, utilizando para isso amostras de dentes mono-radiculares permanentes, de indivíduos com idades entre os 17 e 75 anos e foram medidas as porções de dentina secundária sob luz microscópica (Olympus CH 30). Foram analisadas 5 das 18 medições estipuladas no método de Kedici, sendo estas: espessura total cervical (espessura entre as JAC's labial e lingual); altura da polpa desde a linha cervical; largura da polpa na linha cervical; altura da pré-dentina acima do tecido pulpar e largura da polpa 5mm acima do ápice radicular. Estas medidas podem ser observadas na figura 2.

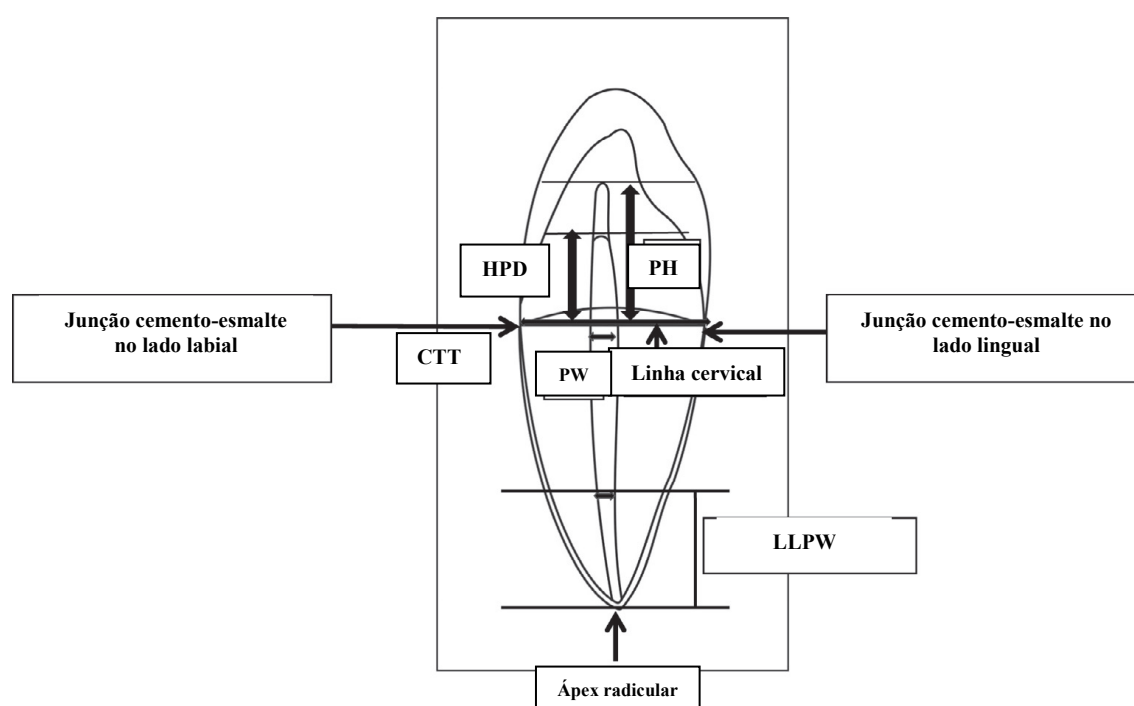


Figura 2- Medições micrométricas da morfologia do dente. Espessura total cervical (CTT), altura da polpa desde a linha cervical (PH), largura da polpa na linha cervical (PW), altura da pré-dentina acima do tecido pulpar (HPD) e largura da polpa lábio-lingual 5 mm acima do ápice (LLPW) (Arora et al., 2016).

Este estudo conclui que existe melhor relação entre as variáveis quando usado o método de Gustafson, na população indiana e relativamente ao método de Kedici, a largura da polpa na linha cervical e a altura da pré-dentina acima da polpa são as medidas que apresentam maior relação à estimativa da idade. A largura da polpa na linha cervical diminuiu com a idade, facto que se deve à deposição da dentina secundária.

Os dentes uni-radiculares, simples, são preferíveis para medições da dentina secundária, para evitar erros nas medições consequentes de diferentes morfologias, anatomias ou bicúspides.

1.2-Translucidez Dentinária

A translucidez continua a ser o método mais escolhido, fornecendo resultados mais precisos na estimativa da idade (Chopra et al., 2015) e um dos métodos mais simples. É o menos afetado por fatores ambientais e processos patológicos, resistindo também a mudanças relacionadas com a idade, sendo por isso considerado por Gustafson o parâmetro mais significativo dos seis. É também distribuído de forma simétrica nos dois lados mandibulares. É a manifestação visual das alterações na dentina. Considerada por vezes até a única prova da estimativa de idade, reconhecida opticamente. Na sua área de maior mineralização, a dentina permite que a luz passe através dela, não refletindo nem espalhando a luz, como acontece com a dentina normal. Na literatura encontramos relação entre aumento da idade e a translucidez dentinária radicular nos indivíduos com mais de 20 anos (Tapia et al., 2014).

O processo da translucidez é o resultado da obturação dos túbulos dentinários por material calcificado (cristais de hidroxiapatite). Este, por sua vez, apresenta um índice de refração muito próximo do da dentina adjacente. Esta translucidez é dita fisiológica quando não existem traumas adjacentes, como por exemplo na lesão de cárie. A translucidez dentinária, como característica fisiológica, não aparece antes dos 20 anos de idade (Bajpai et al., 2015).

As mudanças no número de túbulos obturados podem ser calculadas segundo: $\text{rácio de obturação} = \frac{\text{nº de túbulos obturados}}{\text{número de túbulos abertos}}$, sendo que valores maiores correspondem a uma maior quantia de túbulos obturados (Montoya et al., 2015).

A translucidez da dentina foi um método proposto primeiro por Gustafson, em 1950, como um dos seis parâmetros para a estimativa da idade adulta e mais tarde apoiado por Johanson, em 1971, como o fator mais fortemente ligado a esta. É também uma abordagem fácil e relativamente precisa, para a estimativa da idade post-mortem. A área afetada pela translucência representa uma mudança bidimensional e pode refletir variações de idade melhor que o seu comprimento (de translucidez) (Acharya, 2014). A sua simplicidade e relativa precisão são fatores adicionais que deverão ser reconhecidos como fatores de interesse para a sua avaliação. A translucidez dentinária pode também

ser observada macroscopicamente, embora seja melhor avaliada através de secções dentárias, sendo por isso utilizadas estas em inúmeros estudos. Gustafson em 1950; Bang and Ramm, 1970 e Johanson em 1971, referido em Acharya (2014), utilizaram como critério para estimar a idade, a translucidez da dentina radicular, encontrando relação entre o aumento da translucidez e o aumento da idade. Novos estudos adaptaram e derivaram as fórmulas de Gustafson tendo demonstrado resultados mais fortemente relacionados e com erros cada vez menores, ao longo do tempo.

Uma metodologia digital apresenta vantagens em relação à metodologia convencional, uma vez que não são consideradas as variáveis dependentes do operador. Este método irá melhorar a reprodutibilidade, diminuir a variabilidade entre operadores diferentes e determina a idade médico-legal com maior precisão. Existem várias razões para usar o método digital em vez de o convencional para medir a translucidez dentinária: O método digital permite uma melhor distinção entre as zonas translúcida e não translúcida, permitindo por isso uma melhor medição. Também podem ser utilizadas lupas no método convencional mas, independentemente da ampliação, há sempre o problema dos compassos calibrados poderem danificar cortes de dentes finos, sendo portanto difícil a sua estabilização nestes. Estes compassos são melhor utilizados em dentes intactos. O método digital impede a danificação destas secções dentárias (Acharya & Vimi, 2009). As imagens digitais poderão ser armazenadas e utilizadas futuramente, independentemente das condições em que se encontrava a secção dentária na altura da medição.

Num estudo conduzido por Tapia et al., em 2014, foram comparados os métodos convencional e digital para estimativa da idade através da medição da translucidez da dentina radicular de dentes incisivos, caninos, pré-molares e molares. No método digital, indireto, instala-se o dente num sistema de documentação fotográfica, que tem como característica permitir a instalação de um negatoscópio de luz LED como fonte de luz constante e de permitir o armazenamento das imagens em *software*. No método convencional, direto, a translucidez da dentina radicular é observada diretamente, visualmente, através da colocação desta sob uma fonte de luz fria, constante e uniforme. Neste estudo, o método digital apresentou melhores resultados relativamente à estimativa da idade, em comparação com o método visual.

Segundo Chopra et al., em 2015, a área de translucidez da dentina apresenta melhor correlação com a idade estimada do que o comprimento e que esta contribui também de uma melhor forma para as fórmulas de regressão múltiplas. As medidas do comprimento são facilmente realizadas manualmente através de compassos calibrados (tipo pinça). Já as da área não são tão facilmente realizadas, sendo neste caso necessário uma aproximação de um quadriculado sobre a zona translúcida. Com o avanço da tecnologia, hoje em dia já há computadores comercialmente disponíveis para usar o método digital (Acharya, 2014).

Estudos conduzidos por Chopra et al. em 2015, ao comparar os dois métodos, utilizaram igualmente uma fonte constante de luz LED sobre secções dentárias, medindo a extensão da translucidez entre os seus limites mais apical e coronal, dentro da raiz, com uma pinça calibradora, para a medição convencional. Estas medidas são sensíveis a 0.1mm. No método digital é utilizado um *scanner*. As imagens digitalizadas são importadas para um programa de *fotshop*, para a sua posterior visualização e medição da translucidez. A translucidez irá aparecer como uma área mais escura do dente. Esta é medida em milímetros, através das ferramentas do programa, desde o seu limite mais apical até ao limite mais coronal, na raiz (Fig.3). Estes autores afirmam existir uma extensão gradual desta translucidez em direção à coroa à medida que a idade avança, até que toda a raiz fica translúcida.

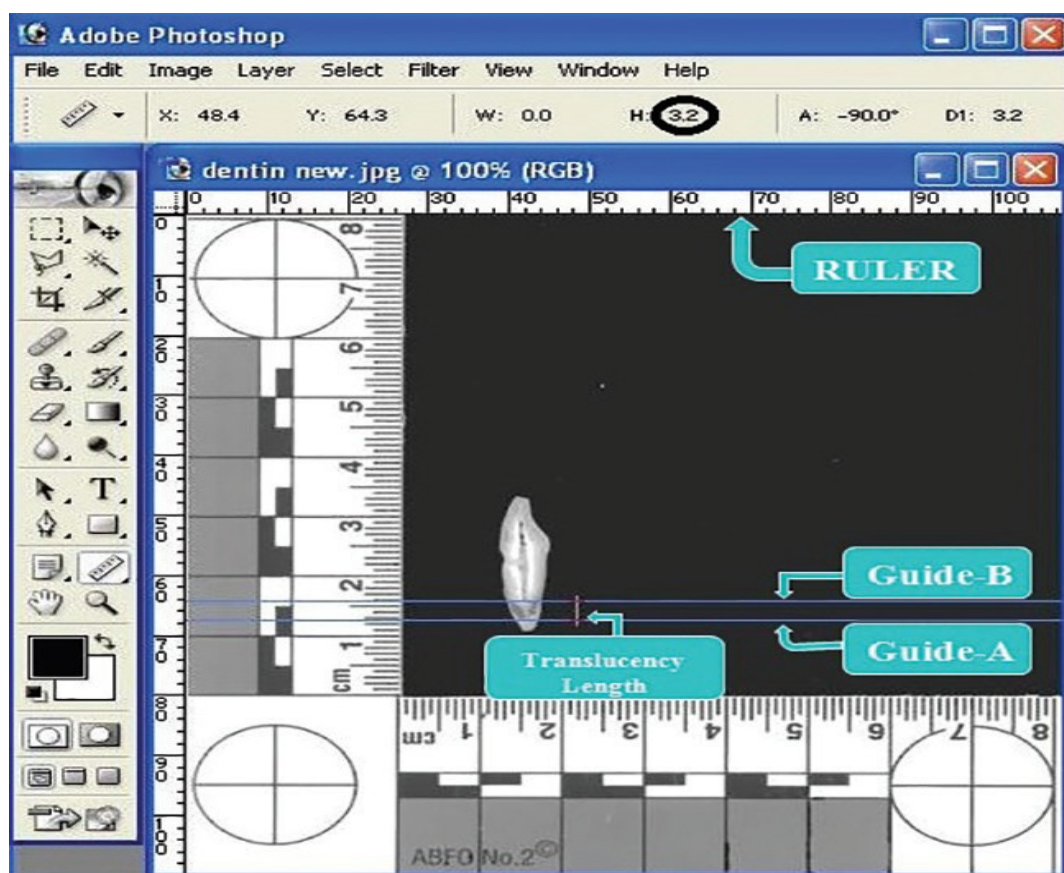


Figura 3- Medição da translucidez dentinária. As guias A e B correspondem aos limites apical e coronal, respetivamente (Chopra et al., 2015).

Relativamente aos resultados do estudo, as medidas convencionais apresentaram melhor relação com a idade num intervalo de 5 anos de idade conhecida e as medidas digitais uma melhor relação quando o intervalo de idade conhecida vai para além de 10 anos de idade. No entanto, os resultados obtidos através de ambos os métodos foram semelhantes.

A aplicação de azul de metileno a 1% nas secções dentárias foi utilizado pela primeira vez por Thomas em 1994, com resultados satisfatórios. Este é absorvido por todas as estruturas da raiz (a dentina fica azul, o cemento azul escuro), exceto as áreas que apresentem translucidez, por serem completamente mineralizadas. Estas medidas foram utilizadas mais tarde noutros estudos. A translucidez inicia-se na parte apical da raiz devido ao menor diâmetro dos túbulos dentinários nesta zona, sendo os primeiros a

obturar ou, outro dos possíveis motivos, devido ao menor número de túbulos dentinários por unidade de área (Kattappagari et al., 2014).

Um estudo mais recente, guiado por Kattappagari et al., em 2014, demonstrou uma forte correlação entre a translucidez da dentina e o aumento da idade, em dentes permanentes uni-radiculares, através da técnica do azul de metileno a 1 %. Foram feitas as medições da área e do comprimento com a ajuda de um compasso digital e de um estéreo-microscópio, tendo-se verificado uma relação maior no que respeita à área translúcida. Estes autores deduzem que em indivíduos com mais de 70 anos é difícil calcular a estimativa da idade, pois o aumento deste processo estabiliza a partir daqui, devido ao bloqueio completo dos túbulos dentinários.

Este aumento da matéria mineral tem vindo a ser associado a um aumento na fragilidade da dentina, havendo deste modo diferenças nas suas propriedades mecânicas (Montoya et al., 2015).

Alguns estudos mostram resultados diferentes. Estas diferenças podem dever-se a vários fatores, como os diferentes hábitos e higiene oral das diferentes amostras populacionais ou o tamanho das amostras ser limitado e apesar disto, não há consenso para a definição de uma metodologia única.

1.3-Quantidade de Ácido aspártico

Estimar a idade através da utilização do ácido aspártico tem sido um dos métodos mais fiáveis e precisos até à data (Yekkala et al., 2007) e cada vez mais utilizado (Chen, Lv, Wang, & Yu, 2016).

O envelhecimento dos órgãos do ser vivo envolve reações em que proteínas intracelulares e extracelulares são submetidas a degradações não-enzimáticas e espontâneas sob condições fisiológicas. Os aminoácidos constituintes do corpo humano existem, na sua maioria, na sua forma L. Com o aumento da idade, estes sofrem uma transformação gradual da sua forma L para a forma D, processo denominado de racemização. O processo de racemização ocorre também em tecidos que são metabolicamente lentos ou inativos, tais como a lente ocular, discos vertebrais, pulmão, partes do cérebro e dentes. À partida, todos os resíduos de aminoácidos constituintes de proteínas poderão ser analisados quanto à sua pureza enantiomérica, fornecendo dados de racemização e, dessa forma, informações cronológicas (Yekkala et al., 2007). As proteínas permanentes, sintetizadas no início da vida não são substituídas. Portanto, o ácido D-aspártico vai sendo, desta forma, acumulado.

Sendo o órgão mais rijo e mais facilmente preservado, dificilmente o dente é afetado pela degradação da proteína durante a decomposição do corpo, estando a dentina localizada no meio do dente, ficando assim protegida contra alterações ambientais que possam afetar a racemização, tais como o pH, temperatura ou humidade. Os outros órgãos, ao sofrerem uma grande descida da temperatura, diminuem a sua taxa de racemização do ácido aspártico (Chen et al., 2016). Por isso, a racemização de ácido aspártico na dentina pode ser aplicável para estimar a idade de cadáveres ou restos putrefactos (Yekkala et al., 2007).

É a dentina que possui o maior teor de ácido aspártico, seja na forma D ou L. A dentina é assim considerada um tecido de escolha, pois este aminoácido forma-se no início da vida, sofrendo apenas um pequeno *turn-over* bioquímico durante esta e apresenta uma composição homogénea da sua matriz orgânica o suficiente para permitir estimar a idade *post-mortem*. Existe também uma maior facilidade em utilizar o ácido aspártico para relacionar à estimativa da idade, pois é mais simples isolar hidrolisados desta

proteína. Esta taxa de racemização, na dentina, é de aproximadamente 0.055% de inversão por ano (a 37°C), num corpo vivo, sendo considerada relativamente rápida (Chen et al., 2016).

Várias mudanças ocorrem nos aminoácidos constituintes das proteínas, com a idade. Podemos citar a oxidação, isomerização e racemização. De entre estas, a racemização do ácido aspártico é uma das mais importantes (Yekkala et al., 2007), por ser um método muito fiável e, de todos os aminoácidos, o ácido aspártico é o que apresenta uma maior taxa de racemização, sendo este um processo bioquímico de primeira ordem e, indicando assim uma constante em função da idade (Chen et al., 2016). No entanto necessita de especialização, pois o processo é muito complexo, sendo consideradas as várias etapas: recolha, pulverização, desmineralização, hidrólise, derivatização e quantificação. Vários estudos foram realizados, todos com resultados positivos, ao usar ácido aspártico em dentes para estimar a idade cronológica, com correlação entre a idade real e a racemização do ácido aspártico D/ L. Este método é sem dúvida considerado, atualmente, um dos métodos mais precisos para estimar a idade cronológica.

Os métodos comumente utilizados para determinar L- e D-ácido aspártico são GC (cromatografia gasosa), CE (cromatografia por exclusão), LC (cromatografia líquida) acoplado a UV e deteção de fluorescência. A dentina forma-se desde a coroa até ao ápice da raiz e, deste modo, a relação D/L é provavelmente maior na coroa e vai diminuindo gradualmente até à raiz e deste modo as secções retiradas dos dentes deverão ser longitudinais, em vez de transversais e retiradas do centro do dente, uma vez que a racemização varia de labial para lingual (Yekkala et al., 2007).

Um estudo conduzido por Yekkala et al., em 2007, avaliou a eficiência do método LC, juntamente com a deteção da fluorescência utilizada na estimativa da idade, baseada na determinação da relação L/D em três amostras de dentina humana de dentes pré-molares. É proposta uma simples modificação da amostra, para uma maior estabilidade abaixo de pH de 7, tendo sido utilizado derivados de D/L-Asp (O-ftaldialdeído-Nacetil-L-cisteína). Este sistema LC consiste numa bomba, um injetor de amostras automatizado e um espetofotómetro de fluorescência. A estimativa da idade foi calculada através de equações de regressão. O estudo concluiu que este método LC é

linear e poderá ser usado para estimar a idade com base na racemização de ácido aspártico na dentina.

Chen et al., em 2016, estimaram também a idade cronológica através da relação L/D de ácido aspártico na dentina de terceiros molares, na população de Chaoshan. Foi extraída a dentina desses dentes e os ácidos aspárticos L e D foram separados e detetados através de um método cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e foi realizada regressão linear entre o rácio D/L de ácido aspártico na dentina e a idade cronológica. Não houve diferenças significativas nos resultados entre sexos nem entre mandíbula e maxila e os resultados indicaram também uma íntima relação entre a idade cronológica e as proporções de Asp nas formas D e L.

Outro estudo que mediu a racemização do ácido aspártico na dentina, em 2013, na população Indiana que foi conduzido por Rajkumari et al., utilizou igualmente a técnica da cromatografia líquida de alta performance (HPLC). A amostra consistiu em primeiros e segundos pré-molares esquerdos e direitos, não cariados, extraídos por razões periodontais ou ortodônticas. Os diferentes componentes da solução foram detetados por um detetor de fluorescência e analisados por *software* TCA (*Totalchrom*). Foi traçado o cromatógrafo e a partir dos dados obtidos neste, foram traçadas equações de regressão das linhas que definem a relação entre idade conhecida e extensão da racemização. As idades desconhecidas da amostra são calculadas através dos resultados obtidos através da seguinte fórmula: $\text{Ln} [(1 + D / L) / (1 - D / L)]$. A partir deste estudo concluiu-se que a relação D/L era menor para grupos etários com menor idade e maior para grupos mais velhos, sendo que desta forma existirá acumulação da forma D com o avançar da idade.

Estudar a racemização do Asp na dentina apenas em dentes semelhantes é um método viável, pois se for em dentes diferentes, estes podem-se apresentar em estágios de desenvolvimento diferentes e, conseqüentemente, apresentar diferentes taxas de racemização e dentinas extraídas de dentes que estejam na mesma posição, sejam de mandíbulas ou maxilas, sexo masculino ou feminino, possuem uma taxa de racemização de ácido aspártico muito semelhante.

Na última década, os investigadores utilizaram, na maioria, cromatografia em fase gasosa para quantificar o ácido aspártico, alcançando uma alta sensibilidade. No

entanto, este processo de preparação e derivação da amostra é complicado e pode levar a um acumular de erros. Já o método de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) apresenta uma derivatização e preparação simples das amostras e evita o trabalho laboratorial da derivatização para cromatografia gasosa.

Muitas técnicas utilizadas para estimar a idade continuam a ser imprecisas e a induzir em erro ao passo que a utilização do ácido aspártico em tecidos duros permanece (Chen et al., 2016). A maioria dos métodos utiliza a cromatografia líquida de alto rendimento, que revelou resultados notáveis nos últimos tempos.

Valores semelhantes são encontrados entre vários estudos que utilizaram esta mesma técnica de cromatografia líquida de alto rendimento. No entanto, existem vários outros com resultados não coincidentes. A dentina não é uma substância homogênea e diversas partes apresentam variações nas suas taxas de racemização e estas diferenças de resultados podem dever-se a alterações nas espécies dentinárias ou a diferenças analíticas nas condições em que se realizaram os protocolos. Outros fatores podem ser considerados, como raça, localização geográfica ou hábitos alimentares. Origens genéticas diferentes também são uma possível causa destas variações, uma vez que poderá influenciar a composição proteica da dentina (Yekkala et al., 2007).

1.4-Viscoelasticidade

A viscoelasticidade é um fator importante na maioria dos tecidos, no sentido do desempenho da sua função e a sua resposta traduz-se na interação entre a sua matéria mineral e orgânica. A dentina é constituída em cerca de 45% de matéria mineral, com predominância de hidroxiapatite, 33% de matéria orgânica, com predominância de colagénio tipo I, e 22% de água. Na coroa existem variações espaciais na microestrutura da dentina, o que faz com que, nem sempre, estas percentagens se mantenham no mesmo espaço.

A viscoelasticidade da dentina é um fator importante para a sua função na cavidade oral e na sua capacidade de resistência à fratura. O seu comportamento de deformação, consoante o tempo, irá contribuir para uma melhor distribuição de cargas.

Microscopicamente, predominam os túbulos dentinários, que atravessam a totalidade da espessura da dentina, com diâmetro de aproximadamente 1mm. A sua densidade varia entre 22000 a 55000 túbulos por mm² e estes podem funcionar de forma hidráulica aquando do *stress* dentinário.

Para avaliar a viscoelasticidade de tecidos têm sido cada vez mais utilizadas as técnicas de indentação (aplicação de cargas deforma controlada). Esta técnica traz resultados fiáveis sem causar danos nas amostras dos tecidos. Há vários tipos de indentadores (peça que aplica a carga) como os esféricos, cónicos ou piramidais. Os esféricos produzem uma distribuição simétrica e uniforme das tensões, o que permite uma suave transição entre o estado elástico e o viscoelástico durante a sua penetração, facilitando deste modo a análise.

Durante a mastigação, a dentina coronária é submetida a *stress*, de uma forma cíclica. Aqui, a resposta viscoelástica pode deter inícios de fissuração, prevenindo a fratura. Foram propostos vários modelos com o intuito de determinar a quantidade de *stress* e os campos de deslocamento, dependentes do tempo, através de indentadores (Montoya et al., 2017).

O problema de indentação assimétrica foi resolvido através de fórmulas. As análises sobre a composição química da dentina podem ser realizadas sob espectroscopia de Raman, a fim de encontrar a relação mineral-colagénio, em pontos específicos.

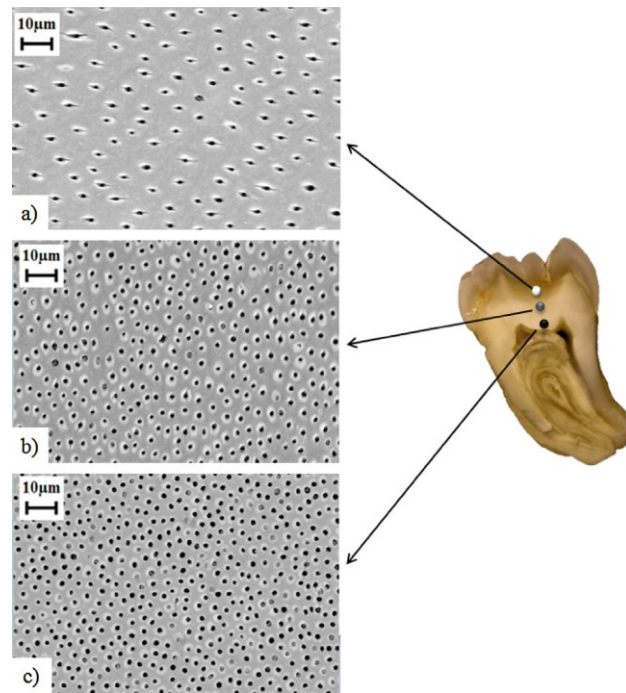


Figura 4- Micrografia da microestrutura da dentina externa (a), média (b) e profunda (c) (Montoya et al., 2017).

A figura 4 mostra micrografias da dentina externa, interna e do meio, desde a polpa à JAD. À medida que se afasta da JAD, a dentina aumenta progressivamente a sua densidade e o diâmetro tubular. Montoya et al., em 2017, descreveram um modelo dependente do tempo, em resposta a cargas monotónicas. A resposta foi influenciada pelas variações espaciais da composição dentinária, ou seja, relação mineral-colagénio e por fatores geométricos (a área do lúmen). A dentina interna revelou a taxa de deformação mais alta, diminuindo esta à medida que se aproximam da JAD. Este comportamento deve-se à composição e à forma de mineralização durante a dentinogénese. A dentina é mais mineralizada na sua superfície e também existe um maior número de espaços livres, devido ao maior volume ocupado pelos túbulos

dentinários. Estes autores demonstram também que o comportamento de deformação aumenta à medida que o tempo passa, considerada assim uma variável dependente do tempo.

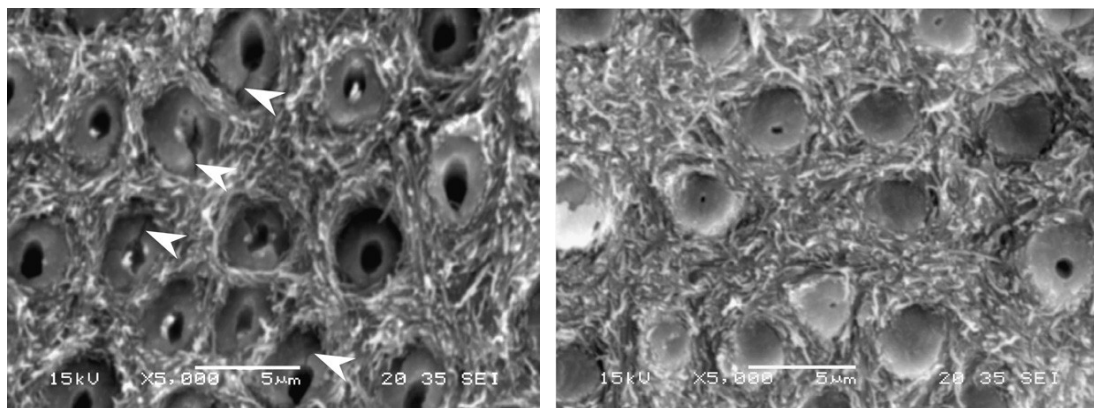
Apesar dos estudos acerca das propriedades viscoelásticas da dentina, pouco se sabe ainda sobre a sua deformação dependente do tempo ou o efeito das variações espaciais dentro da coroa. Compreender o comportamento de deformação da dentina coronal sob cargas dependente do tempo e a influência de variações espaciais na microestrutura é importante para entender o comportamento estrutural dos dentes, uma vez que mudanças na microestrutura dentinária conduzem a alterações nas propriedades mecânicas.

1.5-Resistência à fratura

O aumento de vida útil do indivíduo tem vindo a aumentar cada vez mais. Com esse aumento têm vindo a aumentar também problemas de saúde e, dentro destes, existe também uma maior preocupação relacionada com a capacidade de resistência dos tecidos duros.

A resistência da dentina à fratura (K_c) é de cerca de 1 a 2 megapascals por newton por metro quadrado, sendo que existe uma menor resistência quando as forças atuam perpendicularmente aos túbulos dentinários. A maioria das fissuras e superfícies de fratura na dentina coronária, segue uma orientação perpendicular aos túbulos dentinários (Nazari et al., 2009).

A resistência à fratura é bastante menor na dentina esclerótica do que na dentina jovem, após analisarem as suas propriedades e, da mesma forma, a resistência à fratura vai sendo cada vez menor à medida que a dentina vai envelhecendo e as observações de fissuras *in situ* revelaram uma excedência do material mineral dentro dos lumens em relação aos mecanismos primários de endurecimento, ativos no tecido jovem.



(a) Dentina jovem. (24 anos, Sexo masculino)

(b) Dentina antiga (Sexo feminino, 76 anos)

Figura 5- Micrografia eletrônica de varredura das superfícies de fratura do tecido dentinário (Nazari et al., 2009).

Na figura 5 observam-se micrografias das superfícies de fratura do estudo realizado por Nazari et al., em 2009. Amostras foram separadas da dentina coronal, de forma perpendicular em relação aos túbulos, assumindo-se uma força de resistência à fratura de aproximadamente $1.8 \text{ MPa} \cdot \text{m}^{1/2}$. Foram posteriormente submetidas a cargas cíclicas e a forças de extensão com aproximadamente 0.25N e foram repetidos os ciclos até à fratura da amostra. Foi utilizado o método Eletrónica de Backscatter para diferenciar o lúmen da dentina inter-tubular circundante. Avaliou-se a correlação entre a idade e a resistência ao crescimento da fissura.

Na primeira imagem (a) da figura 5, conseguem notar-se as fraturas nos aros peritubulares, assinaladas pelas setas brancas. Nota-se também uma certa recessão dos túbulos em relação ao plano da dentina inter-tubular. Já na imagem b, não se observam fraturas, havendo uma aproximação entre superfície de fratura dos componentes peritubulares e inter-tubulares. A diferença maior observada entre dentina mais nova e mais antiga está no diâmetro dos lúmens, que diminuem com a idade. Existe um grau significativamente maior de mineral a preencher os túbulos da dentina antiga. Os resultados demonstram existir uma redução significativa na resistência ao aumento das fissuras na dentina humana com o aumento da idade.

As mudanças nas propriedades mecânicas da dentina com o envelhecimento estão maioritariamente relacionadas com o aumento da mineralização nos túbulos dentinários. No entanto, ainda não se sabe ao certo se essas mudanças se devem em si, ao material mineral (Montoya et al., 2015). Pouca informação existe disponível sobre a relação entre as mudanças na microestrutura e a idade e variações espaciais da composição química.

1.6-Outras Transformações

Montoya et al., em 2015, estudaram o efeito do envelhecimento na microestrutura, dureza e composição química da dentina nas três regiões (parte interior, média e exterior) através de microscopia eletrônica, ótica e micro-indentação.

No teste de *Vickers* é utilizado um medidor da dureza com um indentador de diamantes de *Vickers*. Foram feitas indentações da dentina da menos profunda até à mais profunda (desde a JAD até à polpa), com carga de 1,96N e duração de dez segundos, condições suficientes para superar a dureza das dentinas inter-tubular e peri-tubular. A dureza (HV) é então estimada segundo o padrão ASTM C1327 (2008), em consonância com a fórmula $HV=0.1891 \times F/d^2$, onde F é a força aplicada (indentação), em Newtons, e d, a diagonal da forma da impressão.

A microestrutura da dentina é avaliada através do microscópio ótico *Axiovert 40 MAT*, *Carl Zeiss Microscopy, NY* e determinadas a densidade dos túbulos, diâmetro dos lumens e da dentina peri-tubular, tudo nas diferentes profundidades: dentina externa, entre os 0.76mm e 1mm, dentina do meio entre os 0.36 e 0.75mm e dentina profunda, entre os 0 e 0.35mm, segundo a espessura da dentina.

A espectroscopia de *Raman* (*Horiba Jobin Yvon LabRAM HR*) ajuda na análise da composição química dentinária, igualmente nos três níveis de profundidade. O espectrómetro de *Raman* possui um laser com comprimento de onda de 785nm.

Relativamente aos resultados, existe um aumento tanto na densidade como no diâmetro dos túbulos, à medida que a profundidade na dentina aumenta e não existem diferenças na aparência da dentina peri-tubular entre amostras de dadores jovens e idosos. Estes autores obteram como resultados, na dentina jovem, que a densidade média varia entre 25000 e 35000 túbulos por mm^2 , da zona mais externa para a mais interna. Nos idosos há uma diferença parecida entre as duas zonas, mas com a diferença de que existe cerca de menos 10% de densidade tubular, em relação à dentina jovem.

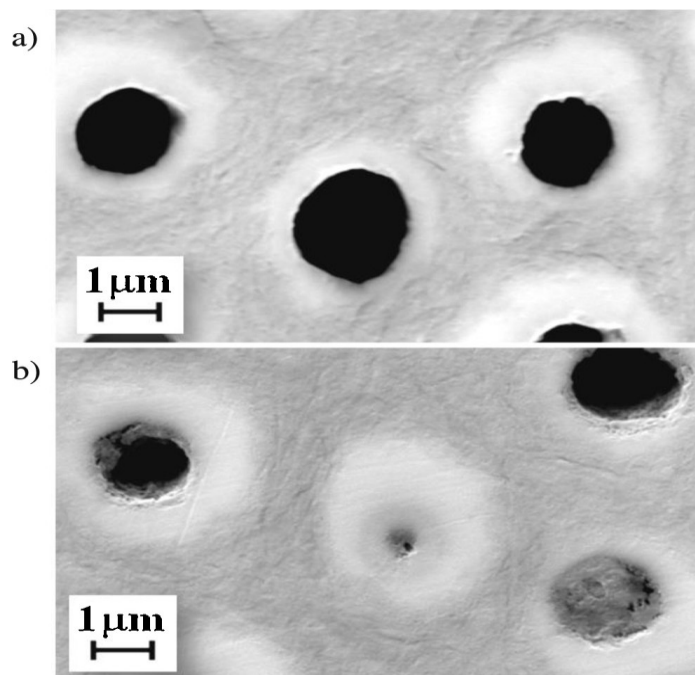


Figura 6- Micrografias de túbulos dentinários da dentina externa. (a) amostra de um dador jovem; (b) amostra de dador idoso (Montoya et al., 2015).

Observam-se túbulos obturados nas amostras dos dadores mais idosos nas regiões média e externa, como podemos ver na figura 6, o que comprova um aumento na mineralização ao longo do envelhecimento. Na dentina jovem o diâmetro médio do lúmen é de cerca de $1.36 \pm 0.12 \mu\text{m}$ na porção externa e de $1.84 \pm 0.1 \mu\text{m}$ na porção interna. Na dentina idosa os valores correspondem a $1.24 \pm 0.08 \mu\text{m}$ na porção externa e de $1.81 \pm 0.35 \mu\text{m}$ na porção interna. Para ambas as dentinas, jovem e idosa, existe diminuição do diâmetro dos túbulos com a proximidade à JAD. Estas medidas menores do diâmetro na dentina externa, em idosos, são explicadas pelo início da esclerose.

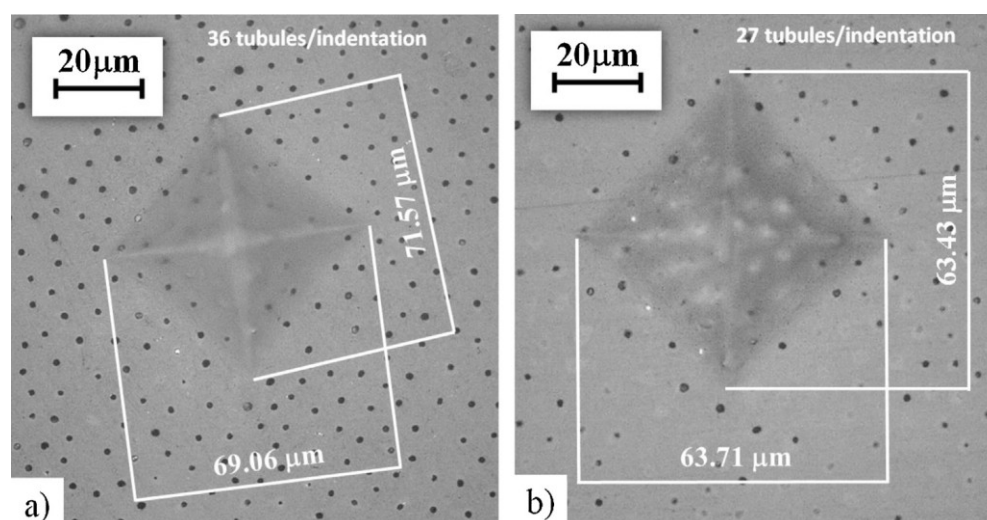


Figura 7- Indentação da dentina externa numa amostra jovem (a) e idosa (b) para determinação da dureza de *Vickers* (Montoya et al., 2015)

Existe uma diminuição da dureza dentinária, à medida que se aprofundou na dentina, para ambas as faixas etárias e Montoya et al., obtiveram como dureza média 0.65 ± 0.03 GPa na dentina jovem e 0.68 ± 0.01 GPa na dentina idosa.

Relativamente à proporção mineral/colagénio, em ambas as dentinas, jovem e idosa, esta aumenta com a proximidade à JAD, sendo que uma proporção mais alta desta relação significa que há uma menor quantidade de matéria orgânica e maior quantidade de mineral. A diferença entre estas duas é de quase 4% perto da polpa, cerca de 40% na dentina média e cerca de 70% na dentina externa, exibindo-se aqui diferenças significativas.

Um dos fatores responsáveis pelas diferenças encontradas na dureza entre dentina jovem e idosa relaciona-se ao número de túbulos presentes na dentina. Uma menor dureza da dentina interna, em relação à externa é, pelo menos em parte associado ao maior número de túbulos dentinários, ocupando uma maior área. A área ocupada na dentina interna pelos túbulos é de aproximadamente menos 20% do que na dentina externa e isto pode ser explicado pelas diferenças de composição química e de material orgânico/inorgânico (Montoya et al., 2015).

A discrepância entre os resultados de diferentes estudos pode ser explicada pelo uso de diferentes técnicas. Diferenças na carga podem também contribuir para respostas únicas, sendo necessário aprofundar esta área. Dizer que existe um aumento da relação mineral/colagénio com a proximidade à JAD, tanto para dentina de idosos como jovens é estar a contradizer os resultados de outros estudos, como os de Ryou et al. (2011), como referido em Montoya et al. (2015), que ditam precisamente o fenómeno contrário na avaliação da dentina coronal de doadores nos EUA, através de FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy) e segundo certos autores é importante considerar a orientação das diferentes faixas na análise de espectroscopia de *Raman*. No entanto, Märten, Fratzl, Paris e Zaslansky (2010), também referido em Montoya et al. (2015), mediram a fração mineral da coroa dentinária através de dispersão de raios-X e deduziram que o volume mineral é uniforme e apenas existem diferenças estatisticamente significativas perto da JAD.

Vários autores defendem existir relação entre etnia e características dentárias, como o tamanho do dente, a espessura do esmalte e a taxa de formação dentária. As arcadas dentárias da população negra são maiores e mais profundas relativamente à raça branca e o esmalte apresentar maior espessura na face distal da população de raça negra. Existem diferentes dimensões dentárias em diferentes populações (Montoya et al., 2015).

A cor dentária é outro dos parâmetros que já foi analisada e relacionada com a idade do indivíduo. A determinação da cor é um desafio, consequente das características do dente, tais como a textura, translucidez ou a sua cor de fundo. Os diferentes graus de translucidez apresentados pelo esmalte e a opacidade da dentina contribuem para mudanças na coloração dentária ao longo de toda a superfície deste. A peça dentária apresenta, assim, uma natureza policromática.

Vários fatores podem estar envolvidos na relação entre a idade e a cor do dente, como: a retração da câmara pulpar e concomitante aposição da dentina secundária; a diminuição da permeabilidade da dentina secundária e o aumento da saturação do seu croma; a diminuição da espessura do esmalte, que se traduz numa maior dominância da cor dentinária, transparecida através deste. Uma hipótese proposta é a de que existe penetração de iões amorfos orgânicos e inorgânicos e de pigmentos através do esmalte e

se depositam na JAC. Vários estudos apontam para um escurecimento dentário, aumento da tonalidade amarela e avermelhada, com o aumentar da idade do indivíduo. O terço médio do dente é considerado a área que melhor representa a sua cor, pois no terço incisal, a observação da cor pode ser afetada pelo plano de fundo da cavidade oral, por ser mais translúcido e a observação da cor no terço cervical é afeta pela dispersão da luz na gengiva.

As características da percepção visual podem ser classificadas de acordo com os atributos de valor, matiz e croma. A matiz é a primeira dimensão da cor e está associada ao comprimento de onda dominante da cor, sendo a qualidade pela qual as cores podem ser distinguidas. O croma é a medida da cor, a quantidade de saturação dessa tonalidade. O valor corresponde ao brilho. Este sistema é adotado na prática da Medicina Dentária, recomendado pela ADA, sendo a base da medição da cor a olho nu e, também, dos dispositivos eletrônicos usados na medição desta. Calcular modelos de regressão baseados nas coordenadas de cromaticidade da dentição natural é considerada uma abordagem válida para relacionar mudanças naturais da cor dos dentes com a idade e o género.

Para medir a cor do dente existem dois métodos, sendo eles que um deles se baseia em guias de sombreamento tradicionais, subjetivo, e o outro utiliza um espectrofotômetro, considerado um método objetivo. Este último é utilizado para medir o espectro visível, tanto de dentes vitais como extraídos.

Em ciências forenses, a determinação da cor da dentina por espectro-radiometria, em combinação com outros métodos, é considerado um método objetivo e bastante útil na estimativa da idade, tanto em dentes recém-extraídos, como de restos de esqueletos humanos, desde que sejam postos de parte os fatores influenciáveis, tais como restaurações ou outras doenças que afetem a coloração dentária, branqueamentos, hábitos tabágicos e de café (Cristina, Montero, Miguel, & Mart, 2015).

Também já foi estudado o efeito da idade na prevalência e de penetração das bactérias nos túbulos dentinários. Na Califórnia, Kakoli, Nandakumar, Romberg, Arola & Fouad (2012) utilizaram 56 dentes uni-radiculares, dividindo-os em dois grupos: um jovem (entre 18 e 25 anos) e o outro com mais de 60 anos. Após a sua lavagem e irrigação, os

canais dos dentes foram preenchidos com um fluido de cultura constituído por *Enterococcus faecalis*. Foi escolhida esta espécie bacteriana anaeróbica facultativa por estar presente em todas as fases do desenvolvimento de uma infeção nos canais radiculares e pode colonizar de forma eficiente e rápida dentro dos túbulos dentinários. Foi realizada posteriormente uma análise histológica, como podemos observar na figura 8, com o intuito de determinar o grau de infeção dos túbulos dentinários. As amostras são de seções localizadas a 6mm do ápice radicular.

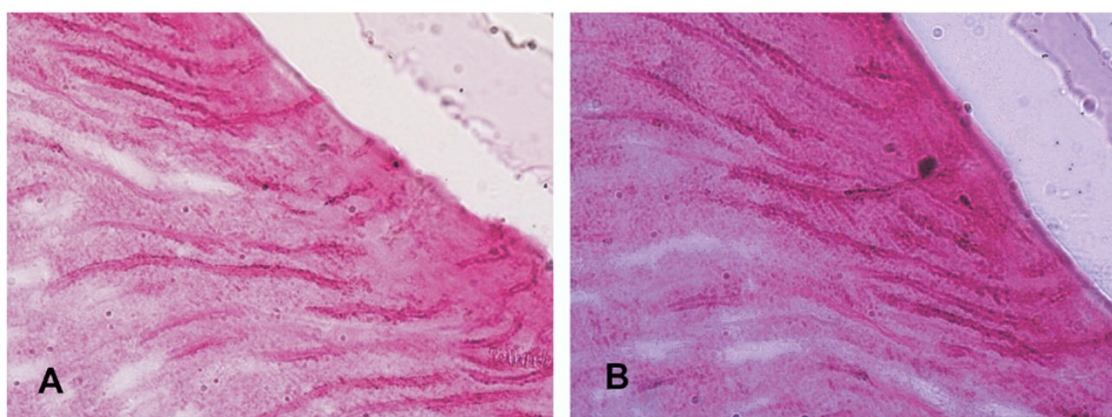


Figura 8- Profundidade da invasão bacteriana numa amostra de (A) dentina jovem e (B) dentina antiga.
(Brown e Brenn, aumento de 1.000 x) (Kakoli et al., 2012).

O túbulo manchado significa um resultado positivo bacteriano. Nesta imagem podem observar-se um maior número de túbulos manchados na dentina jovem. A invasão bacteriana apresentou uma profundidade média de aproximadamente 420µm no grupo jovem e de aproximadamente 360µm no grupo antigo, o que se traduz numa penetração significativamente mais profunda na dentina radicular jovem.

As diferentes profundidades de penetração podem estar relacionadas com o tamanho bacteriano, com o seu adesivo e com a sua motilidade ou devido mas a diferenças nos diâmetros do lúmen, consequente de variações espaciais biológicas ou causadas pela oclusão dos túbulos, relacionado este último com o aumento da idade. Os túbulos que

são escleróticos ou obturados podem impedir fisicamente a invasão bacteriana. O porquê de indivíduos mais velhos apresentarem uma maior taxa de sucesso na terapia endodôntica, poderá estar relacionado com os resultados deste estudo (Kakoli et al., 2012).

2-Transformações na Cavidade Pulpar

2.1-Volume da Câmara pulpar

2.1.1-Aposição de dentina secundária

A aposição da dentina secundária está associada à idade e começa após a raiz do dente estar formada, continuando ao longo da vida. Esta vai-se acumulando nas paredes da cavidade pulpar e este processo leva a uma diminuição do tamanho desta cavidade. A partir deste princípio, vários estudos foram realizados com o intuito de relacionar o tamanho da cavidade pulpar com a idade cronológica, tanto por imagens radiográficas bidimensionais como tridimensionais. As imagens bidimensionais são muito utilizadas, mas é controverso, uma vez que não apresentam as mudanças morfológicas a três dimensões, ou seja, completas, da cavidade pulpar. As técnicas mais recentemente utilizadas têm sido tridimensionais, como a CBTC (cone beam computed tomography), CT (computed tomography) e micro-CT. A partir destas consegue-se relacionar o volume da câmara para o dente inteiro (Ge et al., 2016).

Nas radiografias bidimensionais algumas estruturas são menos claras, como por exemplo os limites da polpa, pois esta apresenta uma forma “cilíndrica”. Devido a isto, podem haver grandes diferenças nas medições quando um mesmo dente é avaliado por investigadores diferentes, tirando resultados completamente diferentes (Pinchi et al., 2015). Foi Kvaal et al. em 1995 quem criou um novo método para relacionar as dimensões da polpa com a idade, através da radiografia peri-apical. A partir daqui, vários outros estudos testaram este método, reproduzindo-o novamente e através de diferentes métodos radiológico, tal como a radiografia panorâmica digitalizada, e novas fórmulas de regressão (Misirlioglu, Nalcaci, Zahit, Yilmaz, & Yorubulut, 2014). Nas imagens radiográficas bidimensionais, a relação polpa/dente pode mudar a qualquer instante, por rotação dentária, sendo portanto um método difícil de realizar quando temos um dente rodado. A imagem em 3D supera este obstáculo de rotação dentária ou sobreposições dentárias (Lee et al., 2017). No entanto, retirar medidas a partir dos *pixéis* significa que a resolução do CBCT pode influenciar resultados das medições. O micro CT possui um grande poder de resolução, sendo adequado nestas situações. Mesmo assim, o micro-CT é de difícil aplicação a nível craniofacial (só pode ser usado em dentes extraídos).

Num estudo conduzido por Ge et al., em 2016, em Pequim, analisaram-se cerca de 240 CBCT's, de vários tipos de dentes (incisivos laterais e centrais, caninos e segundos pré-molares superiores e incisivos centrais e laterais inferiores, caninos, primeiros e segundos pré-molares inferiores) retiradas do banco de dados da Universidade e do Hospital de Estomatologia, que tinham como fim diagnóstico dentário ou tratamento. Os primeiros pré-molares maxilares não foram avaliados, devido à complexidade dos canais radiculares e também não foram utilizados dentes com cáries, restaurações, desgaste excessivo, artefactos ou calcificação da polpa. Também existem parâmetros de exposição para a imagem, no que toca a voltagem e amperagem. Neste estudo, os dentes foram expostos a 110 kV (kilovolts) e a 5.14-89.37 mA (miliamperes). Os dados são posteriormente transportados para imagem a três dimensões.

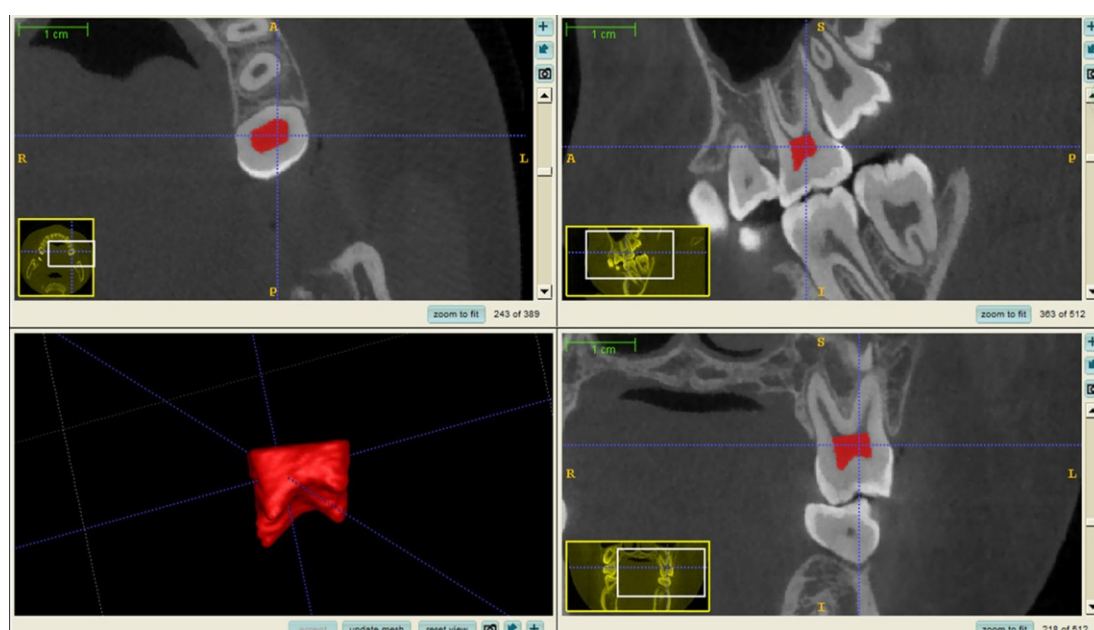


Figura 9- câmara pulpar de um dente multirradicular, imagem segmentada (Ge et al., 2016).

Os volumes das cavidades pulpares são submetidos a análise estatística. Através de análise de regressão logarítmica estabelece-se a relação idade/volume pulpar, para

estimar a idade. Segundo estes autores, existe uma diferença de cerca de 4% entre as imagens micro CT e CBCT para molares multirradiculares e de 6% para pré-molares uni-radiculares. Os resultados obtidos por estes autores mostram que o segundo molar superior é o dente que mostrou uma maior relação entre o volume da câmara pulpar e a idade, sendo o canino maxilar o que demonstrou uma menor relação entre estes dois fatores. Defendem também que a precisão da estimativa da idade aumenta se, no estudo forem incluídos os vários tipos de dentes, em vez de um só tipo, sendo todos os dentes utilizados por estes, recomendados.

A Micro-CT fornece uma imagem detalhada e precisa das estruturas dentárias internas, incluindo a morfologia do canal radicular, tendo sido, por isso mesmo, considerada uma referência para medidas volumétricas dentárias em muitos estudos. No entanto, o CBCT fornece uma área de varredura muito maior em comparação com o micro-CT, pois este poderá apenas digitalizar um dente de cada vez e, como o CBCT tem sido amplamente utilizado pela medicina dentária, existe fácil acesso à informação relativa a cada indivíduo (Ge et al., 2016).

Também se obtiveram relações mais íntimas entre volume da polpa e idade em certos dentes do sexo masculino e noutros dentes, do sexo feminino, sendo recomendada a separação por sexos, quando se estuda esta questão.

Num estudo conduzido por Pinchi et al., em 2015, 148 CBCT's foram analisadas por dois odontologistas forenses. A exposição foi de 90kV e 5-8mA e o tempo de digitalização entre 11 e 13 segundos. Foram apenas considerados para estudo os incisivos centrais superiores esquerdos e foram excluídos os dentes com restaurações, cáries ou outros tratamentos ou desgastes. Este estudo baseou-se na simplificação da medição do volume dentário, através de uma aproximação geométrica deste, dividindo-o em partes e estas sendo assemelhadas com sólidos geométricos (por exemplo, a raiz e polpa com um cone), aos quais é então calculado o seu volume, através de medidas realizadas em *software*. Estas medidas foram: a altura máxima da polpa, altura da raiz, a área elítica da polpa, área da secção da raiz e a área da coroa. Estabelece-se aqui uma relação entre volume do tecido pulpar e o volume de tecido duro: $PH_r = V_p / V_{ht}$, sendo V_p volume da polpa e V_{ht} volume dos tecidos duros do dente e pH_r a relação entre os dois. Para atenuar quaisquer tipos de falha nas medições foram feitas calibrações e

medidas reais foram comparadas com as de CBCT's, obtendo-se resultados regulares. Os resultados deste estudo demonstram uma diminuição do volume com o aumento da idade.

Este procedimento, que passa por escolher a imagem e analisá-la, pelo seu pré-processamento (desenhar os detalhes das imagens manualmente) e posterior medições e cálculos em folhas eletrônicas simples, irá permitir estimar a idade em menos de 15 minutos. Os dentes são previamente limpos e irrigados, para retirar toda a sua matéria orgânica e posteriormente pesados. É injetado um líquido, *Ultravist 370*, que preenche toda a cavidade pulpar e o dente é pesado novamente. A diferença entre o peso do dente cheio e vazio resulta no peso do líquido do preenchimento do dente, sendo o volume da câmara pulpar calculado a partir destes dados (peso/densidade do líquido). A densidade do *Ultravist* pode ser medida com um picnómetro. As análises estatísticas são posteriormente realizadas através das fórmulas de regressão linear múltipla.

A possível razão para uma maior relação entre volume pulpar e idade em certos dentes em relação a outros é a de que os dentes molares possuem como função moer alimentos, enquanto caninos “rasgam” alimentos. Também do ponto de vista clínico, poderá haver uma maior aposição de dentina nas paredes da câmara pulpar em molares do que nos outros, principalmente caninos. As imagens em 3D, para os caninos, podem estar dificultadas, não apresentando tanta clareza, devido à posição em que este dente se encontra na arcada. Já os molares permitem obter imagens num campo plano. Este fator pode assim afetar a segmentação da polpa dos dentes caninos, uma vez que a câmara pulpar dos dentes molares é também maior e mais larga, a partir das imagens em 3D conseguem distinguir-se melhor os seus limites (Ge et al., 2016).

2.1.2-Calcificação da polpa

Cameriere et al. (2015) estimou a idade através da relação polpa/dente, baseando-se no princípio de que a calcificação da polpa aumenta com a idade e, assim, existirá uma diminuição da área da cavidade pulpar, comparativamente à área total do dente. A visão bucolingual é a que apresenta uma maior área da polpa, na sua visualização (Lee et al., 2017). Muitos investigadores utilizam a imagem a três dimensões para superar estes obstáculos.

Um estudo, conduzido por Lee et al., em 2017, na Coreia do Sul, delineou um modelo para estimar a idade através das mudanças na relação da proporção entre polpa/dente, consequentes da calcificação da polpa, utilizando para isso a análise de duzentas e cinco imagens em CBCT. Analisaram as dimensões bucolingual e horizontal de caninos maxilares, entre os 20 e 77 anos, nas áreas da JAC e da raiz, sendo estas as áreas que apresentam uma maior quantia de calcificação. O estudo obteve resultados positivos entre aumento de calcificação do dente e aumento de idade dos indivíduos.

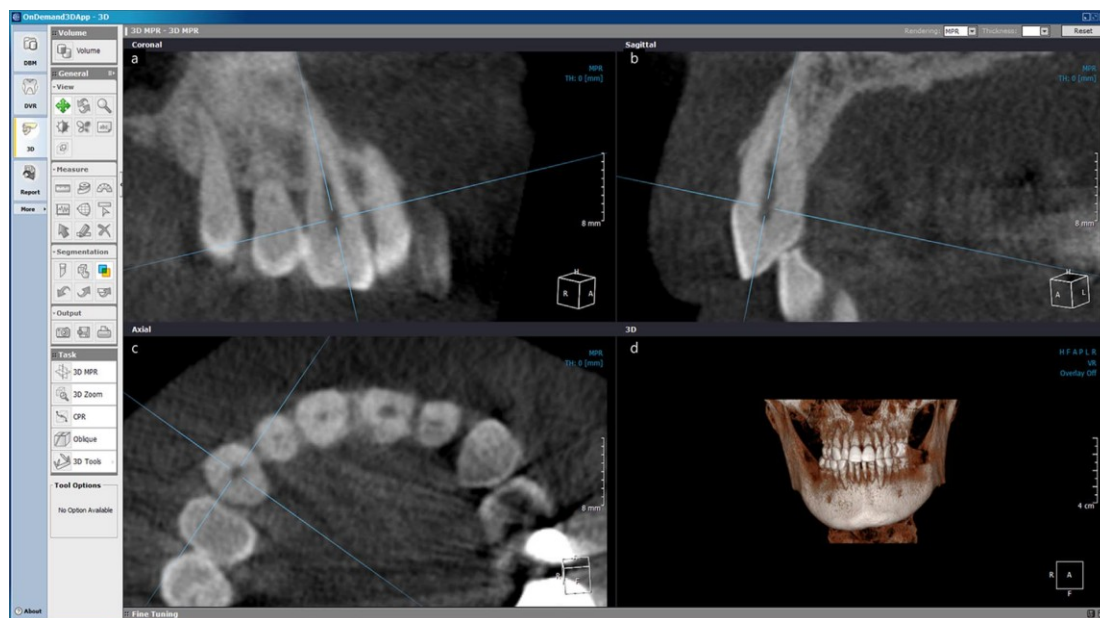


Figura 10- Imagem Bucolingual da visão sagital do canino direito maxilar em CBCT. a) visão coronal do canino direito maxilar, b) visão sagital do canino direito maxilar, c) visão horizontal do canino direito maxilar. d) Imagem dianteira 3D do assunto da análise (Lee et al., 2017).

Medir a secção bucolingual, a secção mais larga do LED (longo eixo do dente), através de CBCT irá resolver qualquer problema encontrado nas imagens bidimensionais. É importante salientar que dentes que apresentem tamanhos e formas anormais, reabsorções externas ou internas e outros distúrbios poderão afetar a área da polpa/dente. A área da polpa e do dente é calculada de forma automática, através de *software* de análise numérica, calculando os valores a partir dos *pixéis* das imagens selecionadas (*MATLAB; The Mathworks Inc., Natick, MA*), o que torna o processo muito fácil e rápido.

2.2-Visibilidade da polpa da Raiz (RPV)

O terceiro molar tem sido cada vez mais utilizado para estudos relacionados com a estimativa da idade. A idade mais frequentemente estudada e que usa como marcador este dente é o limiar de 18 anos, sendo considerada a transição entre crianças e adultos, pois é o único dente ainda em desenvolvimento nesta altura da vida (Lucas, McDonald, Andiappan, & Roberts, 2017). Os 18 anos são uma idade importante em muitos países, sendo a idade considerada legal. Segundo Ine & Pe, em 2015, os terceiros molares inferiores não são apropriados para indicar a idade se acima ou abaixo dos 18 anos, pois a formação completa da sua raiz dá-se anteriormente a esta. A partir daqui começou a dar-se importância à descoberta de outras provas para demarcar esta idade, tais como a observação da polpa da raiz, visualizada através de tomografia panorâmica dentária (DPT). A visibilidade da polpa da raiz de terceiros molares inferiores esquerdos, através de DPT, diminui com o envelhecimento.

O terceiro molar é um dente que poderá fornecer informações preciosas, uma vez que a sua maturação não termina tão cedo quanto a dos outros. Ainda assim, o seu processo de mineralização poderá terminar antes dos 18 anos de idade. Num estudo realizado em Portugal, no Porto, por Ine & Pe, 2015, os autores utilizaram a visibilidade radiográfica, em ortopantomografias, da polpa da raiz de terceiros molares inferiores, para estimar a idade forense, principalmente se a idade se encontra acima dos 21 anos. Avaliaram 487 ortopantomografias com idades entre os 17 e 30 anos e dividiram-nas em dois grupos: menores de 21 e maiores ou iguais a 21 anos. Foram excluídos terceiros molares que tivessem uma única raiz.

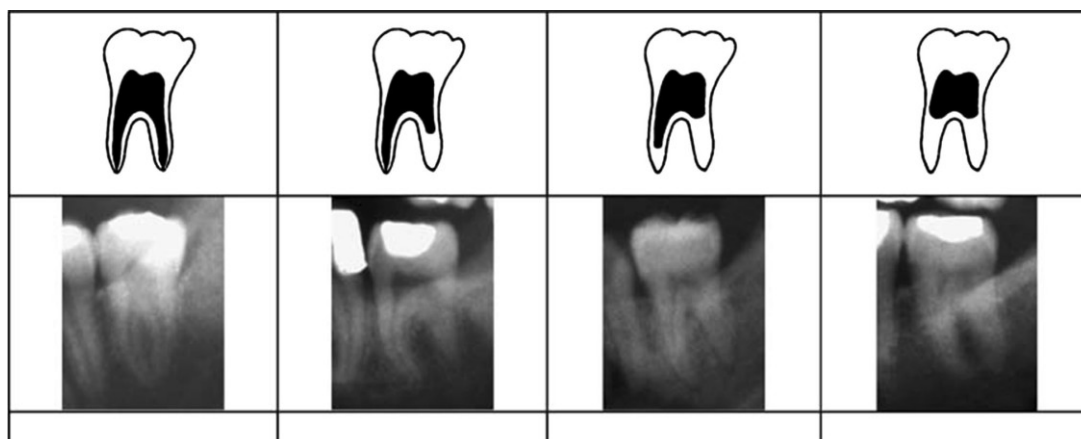


Figura 11-Desenho esquemático dos estágios de visibilidade radiográfica da polpa (Ine & Pe, 2015).

Neste método estão presentes 4 estágios, sendo estes o estágio 0, em que se visualiza a polpa ao longo de todo o comprimento da raiz; o estágio 1, em que em mais de metade de uma das raízes a polpa não é visível; o estágio 2, em que a polpa não é visível na quase totalidade de uma raiz, ou não é visível em parte de duas raízes ou acontecem estes dois fenómenos ao mesmo tempo e o estágio 3, em que não se visualiza polpa ao longo de todo o comprimento de duas raízes. Como resultados deste estudo, o primeiro estágio correspondeu a 18.2 anos de idade, para indivíduos do sexo masculino e 17 anos de idade para os indivíduos do sexo feminino. O segundo correspondeu a 18.4 anos para o sexo masculino e 17.4 para o feminino. O terceiro correspondeu com 18.8 para o sexo feminino e 18.1 para o masculino e o quarto estágio com 19.1 para o sexo masculino e 21.2 para o feminino. Foi utilizada a correlação de Spearman para testar a força e a direção da relação entre a idade cronológico e o estágio de visualização da polpa, verificando-se uma forte correlação positiva para os dois sexos. Estes autores afirmam que o estágio 3 poderá ser utilizado para testar se um indivíduo do sexo feminino apresenta uma idade maior de 21 anos, nesta população. Já para os indivíduos do sexo masculino, deverão ser utilizados outros marcadores. Concluem também que este não é um método ideal como marcador aos 18 anos.

É importante saber se um indivíduo com mais de 18 anos de idade tem também uma idade superior a 21 anos, pois em muitos países esta é a idade legal. É comum utilizar-

se este método de mineralização do terceiro molar, para determinação da idade acima dos 14 anos. Mesmo assim, muitas vezes o processo de total mineralização deste dente é completado aos 20 anos de idade, o que obriga a uma intensiva pesquisa e ao desenvolvimento de novas metodologias. Existem diferentes resultados provenientes de diferentes estudos, ao que se recomendam padrões específicos de populações para se utilizar este método.

Igualmente, Lucas et al., em 2017, no Canadá, exploraram a técnica de visibilidade da polpa da raiz para verificar se um indivíduo está acima ou abaixo dos 18 anos de idade, através de um banco de dados radiográfico, do qual foram retiradas cinquenta tomografias panorâmicas dentárias de pacientes do sexo feminino e cinquenta do sexo masculino, entre os 16 e os 26 anos de idade. Foram estabelecidos estágios de visibilidade e classificados em A, B, C e D. Aqui, o estágio A corresponde a 100% de polpa visível ao comprimento da raiz; o estágio B entre 75 a 50% de polpa visível, o C entre 50 a 25% e o D corresponde a 0%. Este estudo confirmou que para certezas de que existe idade acima dos 18 anos é necessário que este marcador se apresente com um nível de maturidade entre C e D.

Estudar a idade segundo a visibilidade da polpa da raiz implica que haja uma clareza na diminuição desta, consoante o envelhecimento e atribuir números ao grau de visibilidade pode tornar-se uma classificação muito relativa (Ine & Pe, 2015).

2.3-Índice coronal e Rácio Polpa/Dente

Segundo Cameriere et al., 2015, estudar a morfologia dentária, através da imagem radiográfica adulta, é um método bem mais fiável do que muitos outros. Um dos métodos é o estudo da proporção da polpa em relação à proporção do dente, quantitativamente indireto em relação à deposição da dentina secundária, obviamente visível em radiografias. As técnicas avançadas, como a tomografia computadorizada ou análise de imagem assistida oferecem vantagens a este tipo de métodos, tais como a eliminação de erros visíveis entre os observadores e maior precisão e, portanto, trará uma maior fiabilidade do método.

Apesar da grande subjetividade entre observadores, vários autores relacionam a idade com os rácios polpa/dente através de imagem a duas dimensões. As imagens radiográficas deverão apresentar-se sem distorções e com um bom contraste, boa morfologia dentária e completa formação da raiz, para evitar erros aquando a análise. O índice coronal e o rácio da polpa/dente são considerados dois métodos simples, económicos e não destrutivos.

Cameriere et al., em 2015, basearam-se numa nova fórmula automática para determinar o rácio entre a polpa e dente, através de imagens peri-apicais dos dentes, sendo a idade dentária obtida através da fórmula de Cameriere. Retiraram 70 radiografias peri-apicais de caninos superiores, na Universidade de Bologna, em Itália, com conhecimento absoluto das suas idades e foram excluídos todos os dentes que apresentassem cáries, fraturas, reabsorções externas ou internas, tratamentos ou patologias visíveis ao Raio X. As imagens foram segmentadas para permitir maior facilidade da sua análise. Resultados deste estudo, tal como muitos outros, mostraram haver diminuição da cavidade pulpar com o aumento da idade.

Outro estudo, conduzido por Jain et al., em 2017 relacionou o índice coronário e o rácio polpa/dente com a idade, através de radiografia panorâmica digital de segundos pré-molares, primeiros e segundos molares mandibulares.

Neste método, as medidas são registadas em milímetros. É traçada uma linha reta ao nível cervical dos dentes e a altura da coroa é medida desde aqui até à ponta da cúspide

mais alta e a altura da cavidade da polpa desde esta referência cervical até ao corno pulpar mais alto. A partir destas medidas podem calcular-se o TCI de cada dente (*tooth coronal index*), sendo $TCI = CPCH \times 100 / CH$, onde CPCH (altura coronal da cavidade pulpar) e CH (altura coronal). Estas medidas podem ser observadas nas figuras 12 e 13. Para o cálculo do rácio polpa/dente utilizam-se as medidas entre a fossa central e o ponto mais alto da furca e o chão e o teto da câmara pulpar, no mesmo eixo.

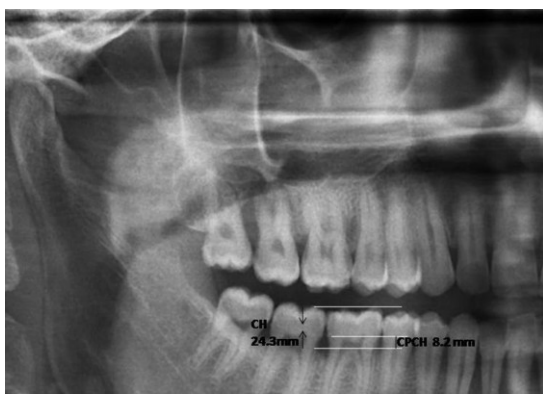


Figura 12- Imagem panorâmica com as medidas para calcular o índice coronal do dente (Jain et al., 2017)

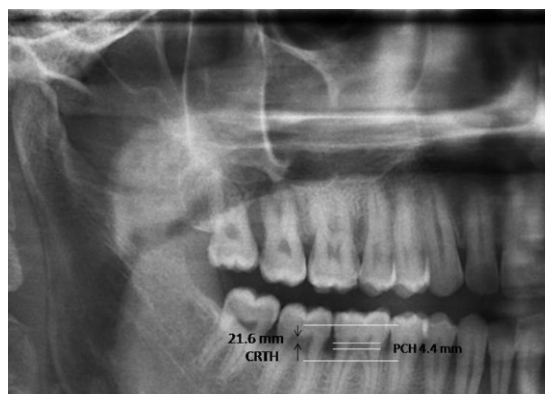


Figura 13- Imagem panorâmica com as medidas para calcular o rácio polpa/dente (Jain et al., em 2017)

Os resultados deste estudo mostraram igualmente haver diminuição da cavidade pulpar com o aumento da idade. Estes autores afirmam também que o primeiro molar mandibular é o dente que apresenta uma melhor correlação com a idade, tanto para o índice coronal como para o rácio polpa/dente.

No entanto, observam-se diferenças significativas nos resultados entre estes dois métodos e uma fraca ligação entre as variáveis, o que leva à necessidade de metodologias mais precisas para afirmar esta associação e à realização de novos ensaios. Estas conclusões podem dever-se ao tamanho da amostra ser limitado e à localização geográfica, na população Indiana, tal como a outros fatores (dieta, fatores ambientais, genéticos e culturais).

A maioria dos estudos para estimar a idade que utilizaram até agora métodos radiográficos, estudaram dentes anteriores e segundos pré-molares. Outros, em menor

quantidade, estudaram os dentes molares. O segundo molar mandibular permanente é útil no sentido em que apresenta uma longa retenção na cavidade oral e é facilmente alcançado pelo processo radiográfico (Kumar et al., 2016).

Um estudo conduzido por Kumar et al., em 2016, teve como objetivo estimar a idade da população de Davangere, através da relação polpa/dente, observada por 400 radiografias digitalizadas peri-apicais do segundo molar permanente da mandíbula, com idades conhecidas entre 14 e 60 anos. Excluíram dentes impactados, tratamentos dos canais radiculares, grandes áreas de sobreposição entre dentes vizinhos, radiopacidades, regressões drásticas, calcificações pulpares e outras anomalias do desenvolvimento. Câmaras pulpares com dificuldades em serem delineadas corretamente, também não entraram na amostra. Aqui, as radiografias são montadas numa mesa com luz para visualizar Raios-X e visualizam-se através de uma câmara digital Sony DSC-WX 150, 18,2 *Mega Pixel* e posteriormente importadas para o programa *Adobe Photoshop CS*, onde se alinha o longo eixo do dente. O dente é então segmentado através de linhas entre determinados intervalos ao longo do comprimento do dente e as imagens posteriormente transferidas para o programa *AUTOCAD*.

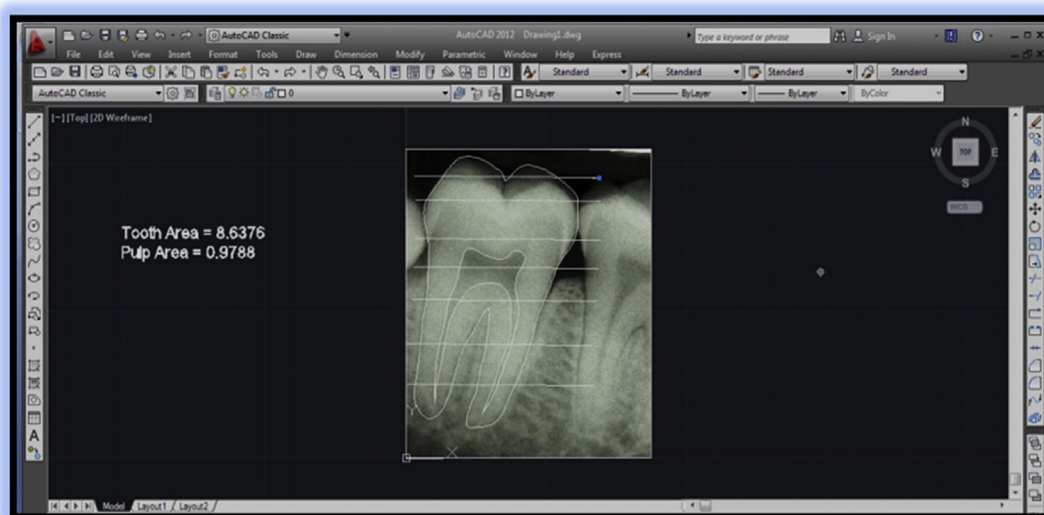


Figura 14- cálculo da área dentária e pulpar em *AUTOCAD* (Kumar et al., 2016).

Estudar a variável morfológica é considerado um exame interno e tem como qualidade eliminar o efeito de fatores ambientais sobre o corpo humano (Cameriere et al., 2013). O segundo dente molar da mandíbula é menos afetado por cáries e atritos, apresentando, por isso, uma maior estabilidade morfológica comparativamente aos primeiros molares. É também minimamente afetado por sobreposições de outras estruturas anatómicas, doenças congénitas, apresentam uma retenção prolongada na cavidade oral e são de fácil acesso para o procedimento radiográfico (Kumar et al., 2016).

Kumar et al. afirmam a deposição da dentina secundária ser menor na idade jovem e maior na idade mais idosa, ocorrendo o processo de deposição a um nível mais rápido nesta última. Estas diferenças também se podem dever a fatores ambientais, tais como a dieta. Se esta for abrasiva, o desgaste na superfície dentária leva a um consequente aumento na aposição da dentina secundária e, obviamente, à diminuição do tamanho da cavidade pulpar. A peça dentária de indivíduos do sexo feminino também pode apresentar um tamanho diferente da do sexo masculino, sendo estas últimas comumente maiores, o que poderá levar a diferenças nos resultados dos estudos.

Ao serem realizadas medições que envolvam a proporção dente/polpa poderá induzir-se em grandes erros nos casos em que os dentes apresentem maiores desgastes, como bruxismo.

Segundo o método de Kvaal, são retiradas as seguintes medidas nas radiografias: razão do comprimento dente/raiz; relação entre o comprimento polpa/dente; relação de comprimento polpa/raiz; Relação da raiz/largura da polpa na JAC; Relação da raiz/largura da polpa a meio caminho entre ápice e JAC; Relação da raiz/largura da polpa a meio caminho entre JAC e raiz central para relacionar a idade com as proporções da área polpa/dente (Kumar et al., 2016).

Misirlioglu et al., em 2014, testaram este método em ortopantomógrafos digitais e utilização de novas fórmulas, em caninos superiores de radiografias digitais periapicais, na Turquia. Defendem haver uma melhor relação entre a largura da polpa e a idade, do que o seu comprimento, por existir uma deposição de dentina secundária mais consistente ao nível das paredes dos canais radiculares, do que no teto da câmara pulpar

e sugerem também que o método criado por Kvaal et al. poderá continuar a ser reproduzido ou modelado (Misirlioglu et al., 2014).

Ainda assim, nos estudos da estimativa da idade em que se utilizam as radiografias panorâmicas digitais, é preferível o cálculo das proporções em vez de comprimentos e larguras reais, pois ainda podem acontecer mínimas distorções horizontais e verticais. Os cálculos de proporções são completamente independentes das medidas da largura e comprimento.

2.4-Número de Células da Polpa

A polpa dentária é constituída por zonas histologicamente distintas. Existe uma zona mais externa, constituída por odontoblastos e, abaixo desta, uma zona livre de células (zona de *Weil*) e abaixo desta última, vem uma zona rica em células. Estas duas últimas são designadas também de camada sub-odontoblástica e nem sempre se conseguem delinear. Também nem sempre está presente a camada livre de células, nos odontoblastos. A camada rica em células está sempre presente, mas pode apresentar modificações na sua constituição.

Outro método relacionado com o volume da polpa e envelhecimento passa pela contagem das células pertencentes a esta. Os odontoblastos são das células que têm sido mais estudadas, pois apresentam um papel importante (produtora da dentina primária e secundária) e uma longa vida. Os odontoblastos podem produzir dentina terciária quando expostos a um estímulo externo. Também podem sofrer morte celular, dependendo do grau da lesão, e neste caso vão atuar os fibroblastos ou os sub-odontoblastos, para reparar o dente, através da sua diferenciação. Os fibroblastos poderão estar intimamente relacionados com a idade, pois as suas funções podem ser afetadas com o avançar desta. Estas são também as células responsáveis pela reparação do tecido e pela manutenção da matriz da polpa, produzindo a matriz extra-celular e o colagénio.

Os vários estudos existentes que relacionam a idade com as células pulpares, baseiam-se nas suas estruturas celulares, na densidade celular e alterações morfológicas e foram realizados tanto em ratos como em seres humanos (Zakir et al., 2017).

Em 2017, um estudo guiado por Zakir et al. teve como objetivo relacionar a contagem de células da polpa (odontoblastos, sub-odontoblastos e fibroblastos) com a idade do indivíduo. Utilizaram para isso 81 dentes extraídos, não por motivos de cárie ou fins ortodônticos, do Departamento de Cirurgia Oral e Maxilo-facial, na Universidade da Malaya. Os dentes foram agrupados em faixas de idades, um grupo entre os 6 e 25 anos e outro entre os 26 e 80. Foram cortados no terço apical da raiz para permitir a entrada de um fixador da polpa, descalcificados com ácido fórmico a 5% e posteriormente submetidos a exame histológico e incorporados em parafina e corados com eosina e

hematoxilina para observação em microscópio digital. A partir das imagens visualizadas, realiza-se então a contagem em *software*, "*Ulead Photo Explorer versão 7.0*", capaz de ampliar imagem.

Os odontoblastos são células que se assemelham com colunas, alinhados à periferia da polpa, fazendo fronteira com a pré-dentina, enquanto os sub-odontoblastos estão localizados abaixo destes. Neste estudo o número de células apresentou-se sempre mais alto no grupo com menor idade, em todos os tipos de células e uma correlação positiva relativamente aos odontoblastos e aos sub-odontoblastos. Estudos anteriores apontaram também para uma diminuição do número de células da polpa, tanto na zona da coroa como da raiz (Zakir et al., 2017).

III. CONCLUSÃO

O processo de envelhecimento humano envolve inúmeras transformações biológicas e após esta revisão podemos concluir que existe uma relação entre a idade cronológica do indivíduo humano com as suas transformações dentárias ao nível da dentina e da cavidade pulpar.

As transformações observadas ao nível dentário, consoante a idade do indivíduo, são um tema valioso a abordar, bastante importante na medicina dentária forense, para a possível estimativa da idade, uma vez que o dente, se tornou uma peça única devido à sua alta resistência relativamente a catástrofes, a altas e baixas temperaturas, doenças do corpo humano ou outras grandes diferenças apresentadas por fatores ambientais, a que todo o resto do corpo humano não consiga resistir. Também são válidas para estimar a idade de indivíduos vivos, cooperando na sua identificação em processos judiciais ou não.

Conhecer o mais possível estas transformações, deverá ser de grande importância para a sociedade de hoje em dia, na medida em que, conhecer os efeitos do envelhecimento biológico da dentina e cavidade pulpar, poderá ajudar na prevenção de alterações na capacidade de defesa do dente, na sua defesa a qualquer tipo de lesão dentária. Através do conhecimento das propriedades mecânicas da dentina é possível compreender o comportamento estrutural dos dentes consoante o envelhecimento e a função normal das células da polpa pode ser afetada pela idade como por exemplo, a função de reparação característica dos odontoblastos ou uma redução no número de túbulos dentinários contribuir para mudanças na permeabilidade dentinária e, consequentemente, outros fatores do seu comportamento físico. Estas mudanças relacionadas com o envelhecimento podem ser importantes na sensibilidade dentinária e na resistência à fratura do dente.

Inúmeras são estas transformações presentes no tecido dentinário, tais como a sua translucidez, o acumular da dentina secundária e do ácido aspártico; e no tecido pulpar, tais como a diminuição do volume da cavidade pulpar e do número de células ou a sua calcificação.

Apesar dos diversos estudos presentes na literatura apresentarem relação na estimativa da idade consoante o evoluir destas transformações, ainda existem alguns estudos que não o conseguem comprovar ou que mostram pouca consistência. Deste modo, será necessário abordar e aprofundar cada vez mais este tema, sendo pertinente um maior número de estudos que demonstrem total consistência entre estas variáveis.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Acharya, A. B., & Vimi, S. (2009). Effectiveness of Bang and Ramm's Formulae in Age Assessment of Indians from Dentin Translucency Length, *Int J Legal Med.* 123(6), 483–488. <https://doi.org/10.1007/s00414-009-0346-7>
- Acharya, A. B. (2014). Forensic Dental Age Estimation by Measuring Root Dentin Translucency Area Using a New Digital Technique, *J Forensic Sci.*, 59(3), 1–6. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.12385>
- Arora, J., Talwar, I., Sahni, D., & Rattan, V. (2016). Secondary Dentine as a Sole Parameter For Age Estimation: Comparison and Reliability of Qualitative and Quantitative Methods Among North Western Adult Indians. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 6(2), 170–178. <https://doi.org/10.1016/j.ejfs.2016.05.006>
- Bajpai, M., Rahman, F., & Girish, K. L. (2015). Estimation of Age by Secondary Dentin Deposition, Root Translucency, and Cementum Apposition: a Unique Modification of Gustafson's Method. *Eur J Forensic Sci*, 2(3), 8–13. <https://doi.org/10.5455/ejfs.181209>
- Cameriere, R., Luca, S., Egidi, N., Bacaloni, M., Maponi, P., Ferrante, L., & Cingolani, M. (2015). Journal of Forensic Radiology and Imaging Automatic Age Estimation in Adults by Analysis of Canine Pulp/Tooth Ratio: Preliminary Results. *Journal of Forensic Radiology and Imaging*, 3(1), 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.jofri.2014.10.001>
- Chen, S., Lv, Y., Wang, D., & Yu, X. (2016). Aspartic Acid Racemization in Dentin of the Third Molar for Age Estimation of the Chaoshan Population in South China. *Forensic Science International*, 266, 234–238. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.06.010>
- Chopra, V., Thodasam, G., & Singh, S. (2015). Conventional Versus Digital Approach for Measuring Dentin Translucency in Forensic Age Estimation. *J Nat Sci Biol Med.*, 6(1), 139–144. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.149112>

- Cristina, G., Montero, J., Miguel, G., & Mart, J. A. (2015). Natural Tooth Color Estimation Based on Age and Gender. *J Prosthodont.*, 26(2), 107–114. <https://doi.org/10.1111/jopr.12345>
- Forensic, R. C., Cunha, E., Wasterlain, S. N., Forensic, S. D. L., Forensic, E. S., Forensic, F. P., ... Cingolani, M. (2013). Journal of Forensic and Legal Medicine Age Estimation by Pulp/Tooth Ratio in Lateral and Central Incisors by Peri-apical X-ray. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 20(5), 530–536. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2013.02.012>
- Franklin, D., Swift, L., & Flavel, A. (2016). “Virtual Anthropology” and Radiographic Imaging in the Forensic Medical Sciences. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 6(2), 31–43. <https://doi.org/10.1016/j.ejfs.2016.05.011>
- Ge, Z., Yang, P., Li, G., Zhang, J., & Ma, X. (2016). Age Estimation Based on Pulp Cavity/Chamber Volume of 13 Types of Tooth from Cone Beam Computed Tomography Images. *International Journal of Legal Medicine*, 130(4), 1159–1167. <https://doi.org/10.1007/s00414-016-1384-6>
- Gupta, P., Kaur, H., Shankari G.S., M., Jawanda, M. K., & Sahi, N. (2014). Human Age Estimation from Tooth Cementum and Dentin. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*, 8(4), ZC07–ZC10. doi: 10.7860/JCDR/2014/7275.4221
- Ine, A. T., & Pe, D. (2015). The Radiographic Visibility of the Root Pulp of the Third Lower Molar as an Age Marker. *Forensic Sci Med Pathol.*, 11(3), 339–344. <https://doi.org/10.1007/s12024-015-9688-2>
- Jain, S., Nagi, R., Daga, M., Shandilya, A., & Shukla, A. (2017). Tooth Coronal Index and Pulp/Tooth Ratio in Dental Age Estimation on Digital Panoramic Radiographs — A Comparative Study. *Forensic Science International*, 277, 115–121. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.05.006>
- Juneja, M., Devi, Y. B. K., Rakesh, N., & Juneja, S. (2014). Age Estimation Using Pulp/Tooth Area Ratio in Maxillary Canines – A Digital Image Analysis. *Journal of Forensic Dental Sciences*, 6(3), 160–165. doi: 10.4103/0975-1475.137047

- Kakoli, P., Nandakumar, R., Romberg, E., Arola, D., & Fouad AF. (2009) The Effect of Age on Bacterial Penetration of Radicular Dentin. *J Endod.* 35(1), 78-81. doi: 10.1016/j.joen.2008.10.004.
- Kattappagari, K. K., Kommalapati, R. K., Katuri, D., Murakonda, R. S., Chitturi, R. T., & Reddy, B. V. R. (2014). Age Estimation by Assessment of Dentin Translucency in Single Rooted Permanent Teeth. *Journal of International Oral Health : JIOH*, 6(6), 37–40.
- Kumar, N. N., Gowda, M., & Annigeri, R. G. (2016). Journal of Forensic and Legal Medicine Digitized Morphometric Analysis of Dental Pulp of Permanent Mandibular Second Molar for Age Estimation of Davangere Population. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 39, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2016.01.019>
- Lee, S., Oh, S., Kim, J., Kim, Y., Choi, Y., & Ho, H. (2017). Age Estimation Using the Maxillary Canine Pulp/Tooth Ratio in Korean Adults : A CBCT Buccolingual and Horizontal Section Image Analysis. *Journal of Forensic Radiology and Imaging*, 9, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.jofri.2016.12.001>
- Lucas, V. S., McDonald, F., Andiappan, M., & Roberts, G. (2017). Dental Age Estimation – Root Pulp Visibility (RPV) Patterns : A Reliable Mandibular Maturity Marker at the 18 Year Threshold. *Forensic Science International*, 270, 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2016.11.004>
- Misirlioglu, M., Nalcaci, R., Adisen, M. Z., Yilmaz, S., & Yorubulut, S. (2014) Age Estimation Using Maxillary Canine Pulp/Tooth Area Ratio, with an Application of Kvaal's Methods on Digital Orthopantomographs in a Turkish Sample. *Australian Journal of Forensic Sciences*. 46(1), 27-38. <http://dx.doi.org/10.1080/00450618.2013.784357>
- Montoya, C., Arango-santander, S., Peláez-vargas, A., Arola, D., & Ossa, E. A. (2015). Archives of Oral Biology Effect of Aging on the Microstructure, Hardness and Chemical Composition of Dentin. *Archives of Oral Biology*, 60(12), 1811–1820. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.10.002>

- Montoya, C., Arola, D., & Ossa, E. A. (2017). Archives of Oral Biology Time Dependent Deformation Behavior of Dentin. *Archives of Oral Biology*, 76, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.01.003>
- Nazari, A., Bajaj, D., Zhang, D., Romberg, E., & Arola, D. (2009). Aging and the Reduction in Fracture Toughness of Human Dentin. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2(5), 550–559. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2009.01.008>
- Pinchi, V., Pradella, F., Buti, J., Baldinotti, C., Focardi, M., & Norelli, G. (2015). A New Age Estimation Procedure Based on the 3D CBCT Study of the Pulp Cavity and Hard Tissues of the Teeth for Forensic Purposes : A Pilot Study. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 36, 150–157. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2015.09.015>
- Tapia, P. C., Srur, J. G., Cordero, C. B., & Silva, C. I. (2014). Estimación de la Edad Médico-Legal Usando dos Métodos para la Medición de la Translucidez Dentinaria Radicular: Análisis Comparativo. *Int. J. Morphol.* 32(3), 956-961. doi: 10.4067/S0717-95022014000300034
- Yekkala, R., Meers, C., Hoogmartens, J., Lambrichts, I., Willems, G., & Schepdael, A. Van. (2007). An Improved Sample Preparation for an LC Method Used in the Age Estimation Based on Aspartic Acid Racemization from Human Dentin. *J Sep Sci.*, 30(1), 118–121. <https://doi.org/10.1002/jssc.200600191>
- Zakir, M., Daud, S., Nambiar, P., Abdul, F., Ab-murat, N., Saub, R., & Bakri, M. M. (2017). Archives of Oral Biology Correlation Between Numbers of Cells in Human Dental Pulp and Age: Implications for Age Estimation. *Archives of Oral Biology*, 80, 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.03.018>